

α - UND β -ADRENERGE VERSORGUNG DER HIRNGEFÄSSE

Olaf Bosse

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Physiologischen Institut der Universität München

Direktoren: Professor Dr. med. K. Kramer
Professor Dr. med. K. Thureau
Professor Dr. med. E. Gerlach

α - UND β - ADRENERGE VERSORGUNG DER
HIRNGEFÄSSE

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Olaf Bosse

aus

Oedheim

1974



Berichterstatter: Professor Dr. K. Thureau

Mitberichterstatter: --

Dekan: Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 26.11.1974

Inhaltsverzeichnis

=====

I. Einleitung

1. Das sympathische Nervensystem im Gehirnkreislauf

- a) Untersuchungen zur Morphologie
- b) Stimulationsversuche am zervikalen Sympathikus

2. Wirkung von Katecholaminen auf die Gehirngefäße:

α - und β -Rezeptoren

- a) Versuche an isolierten Gefäßen
- b) Intravasale Applikation von Katecholaminen
- c) Lokale Gabe von Katecholaminen und ihren Antagonisten

II. Methodik

- a) Präparation der Versuchstiere
- b) Säure-Basen-Status der Versuchstiere
- c) Die Mikroapplikationstechnik
- d) Testsubstanzen und Testlösungen
- e) Statistik
 - α) Daten für Noradrenalin
 - β) Daten für Isoprenalin und Propranolol
- f) Untersuchungen über den Abbau von Katecholaminen
 - α) Versuche anhand von Blutdruckänderungen ganglienblockierter Ratten
 - β) Versuche an der spontan kontrahierenden isolierten Portalvene von Ratten

III. Ergebnisse

1. Die Wirkung von Bikarbonat
2. Die Wirkung von Noradrenalin
3. Noradrenalineinwirkung bei verschiedenen Bikarbonat-konzentrationen
4. Die Wirkung von Isoproterenol und Propranolol
5. Wirkungsverlust der Katecholaminlösungen im Laufe der Versuchsdauer
 - a) Abbau von Noradrenalin (im Laufe von 6-8 Stunden)
 - b) Abbau von Isoprenalin (im Laufe von 3-6 Stunden)

IV. Diskussion

1. Methodik
 - a) Mikroapplikationsversuche
 - b) Untersuchungen zum Abbau von Katecholaminen
2. Ergebnisse
 - a) Die Wirkung von Noradrenalin
 - b) Die Wirkung von Isoproterenol und Propranolol

V. Zusammenfassung

I. Einleitung

1. Das sympathische Nervensystem im Gehirnkreislauf

Die bisherige Literatur betonte vor allem die Rolle des arteriellen pCO_2 , bzw. des lokalen pH als Faktoren zur Regulation der Gehirndurchblutung. Einer nervösen Kontrolle wurde, wenn überhaupt, nur geringe Bedeutung beigemessen (1,2).

In letzter Zeit haben aber morphologische und elektro-physiologische Untersuchungen an der sympathischen Nervenversorgung der Gehirngefäße wiederum die Möglichkeit eines Einfluß des Sympathikus auf die Hirndurchblutung hervorgehoben (3, 5-10, 16-20, 23).

a) Untersuchungen zur Morphologie

Der sympathische Grenzstrang bildet in seinem zervikalen Abschnitt einige Ganglien aus. Vom gangl. cervic. sup. ausgehend folgt der N. caroticus int., der a. carotis int. und bildet in ihrem Knochenkanal den plexus caroticus int.. Vom gangl. stellatum aus begleiten einige Faserzüge die a. vertebralis und formen auch hier ein Fasergeflecht, das zusammen mit dem Carotisplexus die arteriellen Gefäße versorgt, die aus dem circ. art. Willisi entspringen.

Chorobsky und Penfield (1932) fanden lichtmikroskopisch unmyelinisierte Nervenfasern in der Adventitia der Hirnarterien bis zu Piaarteriolen einer Größe von etwa 30 μ . In das Parenchym eindringende Gefäße bis zu einer Größe von 40 μ besaßen ebenfalls unmyelinisierte Fasern, wenn auch in geringerer Anzahl.

Mit der Fluoreszenzmethode (Falck, Hillarp) wiesen Falck und Nielsen (1968) adrenerge Fasern bis in die Piaarteriolen von 15 - 20 μ nach. Piavenen und intraparenchymale Arteriolen waren nur wenig innerviert (5). Mit der gleichen Methode fanden Angelakos et al (1970) eine reiche adrenerge Versorgung der großen Arterien, der Piaarteriolen und in Gefäßen des Hypothalamus. Gefäße in Pons, Medulla und Basalganglien waren deutlich schwächer innerviert. Gefäße im tiefen Cortex besaßen nur selten adrenerge Fasern (6).

Nielsen und Owman (1967) zeigten das völlige Verschwinden der Fluoreszenz nach Reserpinbehandlung, bzw. beidseitiger Exstirpation der gangl. sup.. Diese Ergebnisse weisen sowohl auf die Spezifität der Fluoreszenzmethode hin als auch auf die bedeutsame Stellung, die das gangl. cervic. sup. als Ursprung der sympathischen Versorgung der Hirngefäße einnimmt (3).

Elektronenmikroskopische Untersuchungen(7-10) wiesen nach, daß die sympathische Innervation der Hirngefäße in ihrer Struktur durchaus der in anderen Gefäßgebieten vergleichbar ist. Fasern mit und ohne Myelinscheide finden sich periadventitiell und an der Adventitia-Media-Grenze, die sie allerdings nicht überschreiten. Bläschenförmige Auftreibungen des Axon, mit Mitochondrien und Vesikeln, sowie eine lückenhafte Schwann'sche Scheide kennzeichnen die Endstücke der autonomen Nervenfasern, bzw. die neuromuskulären Übertragungsstellen. Ihre geringste Entfernung zu den Muskelzellen der Media beträgt 80-100 nm .

Die Endstücke der autonomen Nervenfasern unterscheiden sich elektronenoptisch in der Struktur der Vesikel. Iwayama et al (8) beschreiben zwei verschiedenen Typen. Typ I enthält granulierte kleine Vesikel (50 nm) und granulierte große (100 nm). Typ II enthält ungranulierte kleine Vesikel (50 nm) und granulierte große (100 nm). Typ I gilt als adrenergen Ursprungs, da seine Vesikel nach sympathischer Innervation verschwinden, nach Behandlung mit Reserpin verkleinert und nach Applikation von MAO-Hemmern vergrößert sind.

Die morphologischen Befunde zeigen also, zumindest für die extraparenchymalen Abschnitte der Hirngefäße, eine adrenerge Nervenversorgung, die in Dichte und Feinstruktur durchaus die Voraussetzung für eine sympathische Regulation der Hirndurchblutung bilden könnte. Um sich in dieser Hinsicht Klarheit zu verschaffen, wurden zahlreiche Reizversuche durchgeführt.

b) Stimulationsversuche am zervikalen Sympathikus

Donders beschrieb bereits 1859 Versuche, bei denen er den Sympathikus reizte und in direkter Beobachtung eine Konstriktion der Piaarteriolen feststellte (11).

Forbes und Cobb (1938) reizten den zervikalen Sympathikus von Katzen in verschiedener Höhe und fanden unter direkter Beobachtung der Piagefäße, daß nur das gangl. cervic. sup. und der n. carotis int. bei Reizung eine Konstriktion der Arteriolen bewirkten. Die Konstriktion trat unabhängig von blutdruckbedingten autoregulativen Kaliberschwankungen auf und konnte durch lokale Gabe von Kokain und Ergotamin verhindert werden (12). Andere Autoren fanden bei Stimulation keine Abnahme der Hirndurchblutung (13, 14) oder irreversible Konstriktionen der Gefäße (15). Da allerdings in Arbeiten aus dieser Zeit der arterielle pCO_2 noch nicht gemessen wurde, sind die Daten in ihrer Bedeutung eingeschränkt.

Meyer et al (1967) bestimmten an Pavianen die Hirndurchblutung durch elektromagnetische Flußmessung. Reizung der gangl. cervic. sup. ergab eine Durchblutungsabnahme in der a. carotis int. um 30 %. Die Abnahme in der a. carotis ext. war doppelt so hoch, in der a. cerebialis halb so groß. Die Reizantwort begann nach 1-3 sec und hatte nach 5-20 sec ihr Maximum erreicht (16). Die Manipulation an den großen Gefäßen, bedingt durch das Anlegen der Meßsonden und Klemmen, könnte allerdings einen Teil der sympathischen Nerven beschädigt und dadurch einen höheren Reizeffekt verhindert haben.

D'Alecy und Feigl (1972) bestimmten elektromagnetisch den venösen Ausfluß des Gehirns. Nach Stimulation des gangl. stellatum ging die Durchblutung um 79,9 % zurück. Bei Gleichhaltung der anderen Reizparameter konnte eine direkte Beziehung (Dosis-Wirkungskurve) zwischen Reizfrequenz (0-15 Hz) durch Durchblutungsabnahme aufgestellt werden (17).

Während Ludwigs und Schneider (1954), Forbes und Cobb (1967) nach sympathischer Ganglienblockade oder Sympathektomie keine Änderung der Durchblutung finden konnten (18, 12, 16), zeigten James et al (1969) an Affen, daß nach Sympathektomie die Gehirndurchblutung gegenüber den Kontrollwerten mit intaktem Sympathikus deutlich zunahm, wenn der arterielle $p\text{CO}_2$ und der Blutdruck über Normalwerte angehoben wurden. Reizung des zervikalen Sympathikus vermindert die Durchblu-

tung, der Effekt verstärkt sich mit höherem $p\text{CO}_2$ (19).

Meyer et al. (16) und Kobayashi (20) fanden dagegen keine prozentuale stärkere Durchblutungsverminderung bei Sympathikusreizung und gleichzeitiger Erhöhung des arteriellen $p\text{CO}_2$.

James et al. mußten außerdem meßmethodenbedingt ($^{133}\text{Xenon}$ -Clearance) für 12-15 min reizen und für diese Zeit eine konstante Durchblutung annehmen, die für die Berechnung einer steady-state Clearance notwendig ist. Daß für eine so lange Reizperiode eine gleichmäßige Gefäßkonstruktion aufrechtzuerhalten ist, muß bezweifelt werden. Dennoch sind ihre Ergebnisse ein Hinweis auf eine mögliche nervöse Kontrolle der Hirndurchblutung, die gerade bei Änderung physiologischer Systemgrößen wie Blutdruck und $p\text{CO}_2$ in Aktion tritt. Auf jeden Fall machen ihre Daten deutlich, wie wichtig die Messung des arteriellen Blutdrucks und $p\text{CO}_2$ für die Beurteilung von Sympathikuseffekten sein kann.

Insgesamt weist der größte Teil der Untersuchungen (11-25) darauf hin, daß die sympathische Nervenversorgung der Hirngefäße in der Lage ist, bei Reizung die Gehirndurchblutung zu vermindern. Die angegebenen Reizparameter (im Bereich von 3-10 V, 0,1-3 msec Dauer, 5-15 Hz) entsprechen sicher nicht physiologischen Vorgängen im nervösen System. Es bleibt daher unsicher, inwieweit der Körper diese vorgegebenen, funktionellen Möglichkeiten zur nervösen Durchblutungskontrolle des Gehirns wirklich ausschöpft. Da Stimula-

tionsversuche wenig über das aktuelle Geschehen am Rezeptor aussagen, wurden in weiteren experimentellen Ansätzen Fragen der Empfindlichkeit des Gefäßmuskels auf freigesetzte Katecholamine und der Verteilung von α - und β -Rezeptoren im Gehirnkreislauf untersucht.

2. Wirkung von Katecholaminen auf die Gehirngefäße:

α - und β -Rezeptoren.

a) Versuche an isolierten Gefäßen.

Uchida et al (1967) isolierten die a.cerebri media des Kaninchens und perfundierten Seitenäste bis zu 50 μ Größe. Bei konstantem Perfusionsvolumen entsprach der wechselnde Perfusionsdruck einer Widerstandsänderung dieser Gefäßstücke. Auf Gabe von Adrenalin und Noradrenalin im Konzentrationsbereich von 5×10^{-5} - 5×10^{-2} M/l erfolgte eine Widerstandsänderung. Vergleichbare Gefäßschnitte aus der a.mesenterica waren etwa 100 mal empfindlicher auf Katecholamine, zeigten aber etwa die gleiche Reaktion auf andere vasokontraktorische Substanzen (Angiotensin II, Vasopressin, KCl, Plasma) (26).

Nielsen und Owman (1971) verwendeten Gefäßstücke der prox. a.cerebri.media von Katzen und registrierten die Spannungsentwicklung der Gefäßmuskulatur direkt über Dehnungsmeßstreifen. Adrenalin und Noradrenalin hatten eine dosisabhängige Wirkung im Konzentrationsbereich von 10^{-7} - 10^{-5} M/l, Isoproterenol im Bereich von 10^{-6} - 10^{-3} M/l.

Die Dosiswirkungskurve für Noradrenalin verlief flacher und erreichte nur ein Drittel des Effekts von Adrenalin und Isoproterenol. Abschwächung der Katecholaminwirkung durch α - und β -Rezeptorenblockade Phenoxybenzamine und d-INEPA ließ die Autoren schließen, daß zumindest im Bereich der a. cerebr. med. sowohl α - wie auch β -Rezeptoren konstriktorisch wirksam seien (27). Am isoliert perfundierten Kaninchengehirn fanden Lowe und Gilboe (1970) ebenfalls, daß Phenoxybenzamin die konstringierende Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin aufhebt. Die Wirkung von Isoproterenol konnte durch Propranolol verhindert werden. Die benötigten Katecholaminkonzentrationen lagen höher als die für andere Gefäßgebiete beschriebenen.

Oberdörster et al. (1972) konnten am gleichen Präparat den Effekt von Noradrenalin und Adrenalin durch α -Blockade aufheben, fanden aber keine Beeinflussung der Isoproterenolwirkung durch den β -Blocker Propranolol.

Die Ergebnisse am isolierten Präparat weisen insgesamt darauf hin, daß die Hirngefäße, zumindest die extraparenchymalen, auf Katecholamin reagieren und daß ihre Sensitivität auf diese Substanzen schwächer ist als in anderen Kreislaufgebieten. Die Wirkung der Katecholamine kann durch α - und β -Blocker aufgehoben werden.

Nun bieten Isolation und Untersuchung in vitro verschiedene Vorteile. Die Versuchsbedingungen sind leichter zu standar-

disieren. Reaktionen der Gefäßmuskulatur können direkt erfaßt werden, Störfaktoren wie Narkose-Einfluß, metabolischer Einfluß der Umgebung oder Systemänderungen können ausgeschlossen werden. Andererseits sind aber die genauen physiologischen Bedingungen am Gefäß nur zum Teil bekannt, so daß sich in vitro nur schwerlich ein natürliches Milieu herstellen läßt. Weiter läßt sich nicht ausschließen, daß gewisse Strukturen des Gefäßes bei der Entnahme aus dem Gehirn zerstört werden. Die Ergebnisse sind daher auch wohl mehr als modellhaft zu betrachten.

Im Zusammenhang mit den Perfusionsversuchen am isolierten Gehirn stellt sich die Frage, inwieweit Katecholaminperfusionen in vivo Einfluß auf die Hirndurchblutung haben können.

a) Intravasale Applikation von Katecholaminen.

Die Katecholamine wurden intramuskulär, intravenös oder in die a.carotis injiziert. Die endgültigen Blutkonzentrationen für Noradrenalin lagen, soweit nach den Daten von Greenfield et al (30) und Vendsalu (31) kalkulierbar, im Bereich von 10^{-6} - 10^{-8} M/l. Die Wirkung wurde in direkter Beobachtung (21, 32, 33) oder mit Durchblutungsmessung (13-15, 24, 30, 34-40) kontrolliert.

In älteren Versuchen wurde Adrenalin verwendet (13-15, 21, 32, 33). Die Daten sind widersprüchlich und haben wegen

Nichtbeachtung der heute üblichen allgemeinen Versuchsparameter (Säure-Basen-Status im arteriellen Blut) wenig Bedeutung.

Neuere Untersuchungen (24, 34-36) fanden nach i.v. - Gabe von Noradrenalin eine Abnahme der Hirndurchblutung um 10-20 %, bei gleichzeitigem Blutdruckanstieg und einer Erniedrigung des arteriellen pCO_2 um 3-6 mmHg. Häggendal (1965) zeigte, daß die Durchblutung nach Gabe von Noradrenalin auch dann absinkt, wenn das Tier durch Blutverlust künstlich normoton gehalten wird. Allerdings läßt sich nicht ausschließen, daß seine Messungen methodenbedingt, auch Vorgänge im Bereich der a. carotis ext. erfaßt haben (37).

Greenfield et al (1968) und Olesen (1972) fanden nach intraarterieller Injektion von Noradrenalin keine Änderung der Durchblutung, solange der Blutdruck nicht anstieg.

Unter den gleichen Bedingungen nahm die Durchblutung in der a. carotis ext. um 30 % ab (30). Die Erhöhung des Gefäßwiderstands nach i.v. - Applikation führten sie auf autoregulatorische Vorgänge im Zusammenhang mit der Blutdruckerhöhung und auf die Abnahme des arteriellen pCO_2 zurück. Green et al (1956) berichteten von einer zerebralen Mehrdurchblutung nach intravasaler Gabe von Isoproterenol. James et al (1970) kamen zu den gleichen Ergebnissen, fanden aber gleichzeitig einen höheren zerebralen Umsatz für Sauerstoff und Glukose (40). Falck et al (1968) erhöhten die Hirn-

durchblutung ihrer stark hypokapnischen Versuchstiere durch Gabe von INPEA (5).

Fujishima et al. (1968) injizierten Propranolol in die Carotis und wiesen einen Abfall der Durchblutung nach. Aus dem verminderten O_2 -Verbrauch schlossen sie aber auf einen metabolischen Effekt von Propranolol (39).

Die intravasale Applikation von Noradrenalin führt zu Blutdruckerhöhung und nachfolgend zur autoregulatorischen Konstriktion der Hirngefäße. Die noradrenalinbedingte Hyperventilation erniedrigt den arteriellen pCO_2 . Reivich (1964), James et al. (1969) an Raper et al. (1971) konnten eine direkte Beziehung zwischen Abnahme des arteriellen pCO_2 und Durchblutungsabfall, bzw. Reduktion des Gefäßdurchmessers, am Gehirn nachweisen (19, 41, 42). Die metabolische Wirkung von Adrenalin könnte möglicherweise ebenfalls die Durchblutung beeinflussen. - Diese Effekte können jedenfalls die beobachteten Änderungen der Gehirndurchblutung nach intravasaler Gabe von Katecholaminen quantitativ erklären.

Eine solche scheinbar völlige Unempfindlichkeit der Hirngefäße auf Katecholamine, im Vergleich etwa zu extracerebralen Gefäßen (30, 40) steht im Widerspruch zu den Ergebnissen, die Reizexperimente und Versuche am isolierten Präparat erbracht haben. Auch die Bedeutung von α - und β -Blockern (5, 40) bleibt unklar.

Die Nachteile dieses methodischen Ansatzes könnten in Ver-

suchen vermieden werden, in denen die Katecholamine nicht von der Blutseite, sondern von der Gewebsseite her angeboten werden.

c) Lokale Gabe von Katecholaminen und α - und β -Blockern.

Donders benutzte als erster 1850 ein luftdicht abgeschlossenes Schädelfenster zur Beobachtung der Piagefäße (43). Forbes (1928) verbesserte das Schädelfenster durch 2 beidseits angebrachte Bohrlöcher, die eine Bespülung der Hirnoberfläche unter dem Fenster ermöglichten (44).

Forbes et al. (21, 32) und Fog (33) fanden mit dieser Technik eine Konstriktion der Pia-Arteriolen bei Applikation von Adrenalin, 5×10^{-5} - 2.5×10^{-5} M/l, verdünnt in Ringerlösung. Die beobachtete Unempfindlichkeit von Gefäßen unter 50μ könnte durch die relativ grobe Meßtechnik erklärt werden.

Gurdjian et al. (1961) untersuchten die menschliche Hirnoberfläche während neurochirurgischer Eingriffe (45). Sie fanden nach lokaler Gabe von Adrenalin (5×10^{-2} M/l) in 50 % der Pia-Arteriolen eine Dilatation. Bikarbonatgehalt, bzw. pH der Lösungen sind nicht angegeben. Beatmung mit 15-20 % CO_2 bewirkte keine Änderung der Gefäßkaliber. Da bekannt ist, wie wichtig perivaskulär pH und Bikarbonatgehalt für Durchblutungsänderungen der Hirngefäße sind (46), und daß die beschriebene CO_2 -Konzentration sonst zu massi-

ver Dilatation und Mehrdurchblutung führt, stellt sich die Frage, ob nicht durch den operativen Eingriff die Funktionsfähigkeit der Gefäße stark beeinflusst war.

Fraser et al (1971) führten lokale Untersuchungen an der a. vertebr. und a. basilaris von Affen durch. Noradrenalin, 10^{-5} - 10^{-3} M/l führte zu einer Konstriktion der Gefäße. Der α -Blocker Phenoxybenzamin bewirkte eine Dilatation der Gefäße. Konstriktion der Gefäße nach Irrigation mit Blut wurde mit Phenoxybenzamin aufgehoben (47). Die gleichen Autoren wiesen nach, daß eine hypokapnische Konstriktion durch Phenoxybenzamin ebenfalls aufgehoben wird. Allerdings kann ein Eigeneffekt des α -Blockers nicht ausgeschlossen werden.

Rosenblum (1969) konstringierte lokal die Piagefäße mit BaCl. Der α -Blocker Phentolamin (10^{-2} - 10^{-1} M/l) konnte diese Konstriktion nicht beeinflussen. Die β -Blocker Dichlorisoproterenol (1.25×10^{-3} M/l) und Propanol (3×10^{-4} M/l) hoben die BaCl-Konstriktion vollständig auf. An der Aorta waren die β -Blocker um den Faktor 10^3 - 10^4 wirksamer. Auf Pia-Arteriolen unter normalen Bedingungen hatten DCI und Propranolol keinen Einfluß (49).

Raper et al (1972) verwendeten ein Schädelfenster nach Forbes und testeten Noradrenalin und Isoproterenol in Konzentrationen von 5×10^{-6} - 10^{-4} M/l. Sie fanden keine Veränderungen im Durchmesser der Pia-Arteriolen. Der Bikarbonat-

gehalt ihrer Lösungen lag bei 25 mÄq/l, der pH bei 7.3 - 7.4 (25).

Lokale Applikation von vasoaktiven Substanzen und direkte Beobachtung ihrer Wirkung an Piagefäßen haben den Vorteil, daß sowohl Transport zum Erfolgsorgan als auch Bestimmung des Effekts unabhängig sind von physiologischen Größen, die selbst wieder dem Einfluß von Systemänderungen unterliegen können (z.B. Blutdruck, Hirndurchblutung, intrakranieller Druck usw.) Allerdings sind die Bedingungen eines beschränkt lokalen Experiments in den beschriebenen Versuchen nicht streng eingehalten worden. Die Bespülung eines größeren Gefäßareals kann zu Nebeneffekten durch Resorption führen. In der Tat beschrieben Fog (33) und Raper et al (25) eine Erhöhung des Blutdrucks bei Katecholamingabe in höheren Dosen. Abgesehen von der Aufnahme in die Blutbahn können Katecholamine bei Resorption auch die metabolischen Bedingungen im neuronalen Gewebe verändern und so die Durchblutung beeinflussen. Zudem müßte nachgeprüft werden, ob bei mehrmaligen Aufnahmen einer Dosis-Wirkungskurve über dem gleichen Gefäßareal die Reaktion der Gefäße gleich bleibt. In keinem Versuch ist die Funktionsfähigkeit der zu untersuchenden Gefäße, etwa durch Applikation von Lösungen mit unterschiedlichem pH, getestet worden.

Um diese methodischen Fehler zu vermeiden, wurde in der folgenden Untersuchung die Mikroapplikationsmethode angewandt. Bei Applikationsvolumina von 1 - 3 μ l konnten Resorptionseffekte ausgeschlossen werden. Die Funktionsfähigkeit des Einzelgefäßes wurde vor Gabe der Testsubstanzen überprüft. Unter diesen Bedingungen wurde die Frage nach dem Vorhandensein von α - und β -Rezeptoren überprüft.

II Methodik

a) Präparation der Versuchstiere

Versuche wurden an Katzen beiderlei Geschlechts ausgeführt. Die Tiere erhielten zur Narkose 40 - 50 mg/kg Glucochloralose intravenös und wurden anschließend auf ein Heizkissen gelegt, um die Körpertemperatur konstant auf 37° - 38° C zu halten. Temperaturkontrolle erfolgte kontinuierlich rektal durch ein direkt anzeigendes Thermometer.

Die a. femoralis wurde katheterisiert und der arterielle Blutdruck fortlaufend über strain gauge und Hellige-Verstärker registriert. Sank der Blutdruck für längere Zeit unter 100 mmHg ab, wurden die Tiere vom weiteren Versuch ausgeschlossen, da eine normale, reproduzierbare Gefäßreaktion in diesem Druckbereich nicht mehr als gesichert erschien. Über einem Katheter in der v. femoralis konnten Flüssigkeitsverluste während des Versuchs durch eine Infusion von Tyrode-Lösung (2.5 ml/kg, Stunde) ausgeglichen werden.

Die Halsmuskulatur wurde stumpf durchtrennt und ein Trachealkatheter gelegt. Ein Teil der Tiere wurde anschließend relaxiert (Flaxedil, 1 mg/kg) und künstlich beatmet.

Zur Trepanation wurde der Kopf in einer Halterung durch Ohrstifte und einen Mundbügel fixiert. Die Kopfschwarte wurde dann median durchtrennt und der eine m. temporalis vom Knochen abpräpariert. Aus dem parietalen und temporalen Kalottenanteil wurde eine ca. 3 x 1,5 cm große Platte herausgefräst und vorsichtig abgehoben. Die darunterliegende Dura wurde entfernt, wobei besonders darauf geachtet wurde, das Gehirn nicht zu berühren. Die durchtrennte Kopfschwarte wurde an einem ringförmigen Halter über dem Schädel so befestigt, daß sich eine natürliche Wanne ergab, in die einfließendes Paraffinöl die freigelegte Hinterfläche völlig bedeckte. Durch ständige Neuzufuhr von vorgewärmten Paraffinöl konnte die Öltemperatur über der Hirnoberfläche konstant auf 37° C gehalten werden, was durch ein direkt anzeigendes Thermometer kontinuierlich kontrolliert wurde.

b) Säure-Basen-Status der Versuchstiere

Werte für die verschiedenen Versuche sind in Tab. 1 festgehalten. Der arterielle $p\text{CO}_2$, $p\text{O}_2$, pH wurden mit einer Astrup-BMS 2-Anlage bestimmt, der endexpiratorische CO_2 -Gehalt mit einem Uras. Eichung der pH-Elektrode wurde vor und nach jeder Messung durchgeführt. Es wurden standardisierte Astrup-Eichpuffer mit einem pH von 7.381 bzw. 6.840 (bei 38° C) verwendet. Eichung der $p\text{CO}_2$ -Elektrode erfolgte mit wasserdampfgesättigten Eichgasen, CO_2 -Gehalt 4%, bzw. 8%. Zur Kontrolle wurde auch eine Flüssig-

keitseichung durchgeführt, wobei die Flüssigkeit mit den beiden Eichgasen äquilibriert wurde. Zur Eichung der Sauerstoffelektrode wurde eine Null-Lösung (Astrup) und mit Zimmerluft äquilibriertes Wasser verwendet. Der Uras wurde mit CO_2 -freiem Gas und zwei Eichgasen (4% und 8% CO_2) geeicht.

	pH	p CO_2	p O_2	CO_2 endexp.
Noradrenalin 15 Versuchs- tiere	7,31 $\pm$ 0,06	32,7 $\pm$ 3,7	90,1 $\pm$ 6,3	4,17 $\pm$ 0,6
Isoproterenol + Propranolol 9 Versuchs- tiere	7,38 $\pm$ 0,05	29,4 $\pm$ 1,7	124 $\pm$ 12	4,5 $\pm$ 0,1

Tabelle 1: Säure-Basen-Status im arteriellen Blut und endexpiratorischer CO_2 -Gehalt der Versuchstiere. Die Werte wurden während des Versuchs ständig kontrolliert.

c) Mikroapplikationstechnik

Für die Versuche wurde ein Bausch und Lomb Stereo-Zoom-Mikroskop, bei einer Vergrößerung von 50 x, verwandt. Die Vergrößerung wurde während des Versuchs nicht verändert.

Die Mikropipetten, mit einer angeschliffenen Spitze von etwa 8-10 μ , wurden mit den Testlösungen gefüllt, die an Spitze und

Ende der Pipette von Öl umschlossen waren, um eine CO_2 -Diffusion aus den Lösungen zu erschweren.

Die gefüllten Mikropipetten wurden an einem Mikromanipulator befestigt und durch die Arachnoidea hindurch in die direkte Nähe der zu untersuchenden Arterie oder Arteriole geführt, wobei vermieden wurde, die Gefäßwand mit der Pipettenspitze zu berühren.

Im allgemeinen wurden solche Gefäße untersucht, die nur von einer dünnen Schicht Arachnoidalgewebes überzogen waren und nicht in neuronales Gewebe eingebettet lagen. In einigen Fällen wurden auch Gefäße untersucht, die von neuronalem Gewebe umgeben waren, wobei kein Unterschied zwischen den Ergebnissen festgestellt werden konnte.

Mit einer angeschlossenen Spritze wurden jeweils etwa 1-3 μl aus der Pipette in den perivaskulären Raum injiziert. Der Gefäßdurchmesser wurde vor 20 sec und 40 sec nach Beginn der Injektion bestimmt.

Bei einem Teil der Versuche wurden dazu über den dritten Tubus des Mikroskops mit einer Nikkor-Kamera Aufnahmen gemacht (Ilford FP 4 Schwarz-Weiß-Film DIN 23), diese vergrößert und die Gefäße mit einer Schublehre ausgemessen.

In dem anderen Teil der Experimente wurde die Gefäßbreite nach der "image-splitting"-Methode von Baez (50) bestimmt.

Das Prinzip der Methode besteht darin, daß von dem zu untersuchenden Gefäß durch ein Prismensystem zwei Bilder erzeugt wurden, die auf einem Fernsehmonitor wiedergegeben werden. Durch Rotation der Prismen, die über ein Potentiometer auf einem Schreiber registriert wird, können die beiden Bilder gegeneinander verschoben werden. Beim Meßvorgang werden zunächst beide Bilder zur Deckung gebracht. Diese Stellung entspricht dem Nullpunkt. Anschließend werden die Bilder nebeneinander gelegt. Unter Berücksichtigung des Eichfaktors kann aus der registrierten Rotation der Gefäßdurchmesser in μ angegeben werden.

Vor Applikation der eigentlichen Testsubstanzen wurden Lösungen perivaskulär injiziert, die in ihrer ionalen Zusammensetzung dem Liquor entsprachen und einen Bikarbonatgehalt von 0, bzw. 5, 11, 22 mÄq/l hatten. Es wurden nur solche Gefäße weiter untersucht, die in typischer Weise auf eine Bikarbonatkonzentration von 22 mÄq/l mit Konstriktion und auf 5 mÄq/l mit Dilatation reagierten (46).

Die Dosis-Wirkungskurven wurden jeweils an der gleichen Stelle des Einzelgefäßes in aufsteigenden Konstriktionen aufgenommen. Die Zeit zwischen zwei Injektionen betrug etwa 1 min.

d) Testsubstanzen und Testlösungen

Noradrenalin-Testlösungen wurden mit künstlichem Liquor her-

gestellt, der einen Bikarbonatgehalt von 0, 11 und 22 mÄq/l hatte. Isoproterenol und Propranolol wurden in entsprechenden Lösungen mit 11 mÄq/l Bikarbonat gegeben.

Noradrenalin wurde in Konzentrationen von 5×10^{-7} , 5×10^{-6} , 5×10^{-5} , 5×10^{-4} , $2,5 \times 10^{-3}$ und 5×10^{-3} M/l getestet. Isoprenalin von $2,5 \times 10^{-11}$ - $2,5 \times 10^{-4}$ M/l, in Dosen, die sich jeweils um den Faktor 10 unterschieden, zusätzlich $1,25 \times 10^{-3}$ M/l. Propranolol wurde in sechs Konzentrationen von $2,5 \times 10^{-10}$ - $2,5 \times 10^{-4}$ M/l gegeben, die sich ebenfalls jeweils um den Faktor 10 unterschieden.

Der künstliche Liquor wurde täglich frisch aus zwei Stammlösungen hergestellt, die unterschiedliche Konzentrationen von Natrium-, Kalium-, Kalzium- und Chloridionen enthielten. Beide Lösungen wurden mit 5% CO_2 äquilibriert, die eine erhielt Natriumbikarbonat (420 mg/100 ml) zugesetzt. Anschließend wurden die Lösungen mit Paraffinöl überschichtet.

Beide Lösungen in unterschiedlichen Mengenverhältnissen gemischt, ergab Lösungen, die sich in ihrem Bikarbonat- und Chloridgehalt unterschieden, in ihrem Kationengehalt aber identisch waren. Diese endgültigen Lösungen hatten eine Osmolarität von 300 mosm/l, einen Natriumgehalt von 156 mÄq/l Kalium und Kalzium 3mÄq/l. Die Anionenzusammensetzung variierte mit Bikarbonatkonzentrationen von 0, 5, 11, 22 mÄq/l und den

entsprechenden Chloridkonzentrationen von 155, 170, 144 oder 133 mÄq/l.

Der Gesamt- CO_2 -Gehalt wurde in allen Lösungen mit einem Natelson-Mikro-Van-Slyke-Apparat bestimmt und der Bikarbonatgehalt daraus berechnet. Der pH aller Lösungen wurde mit einer Glaselektrode und Knick-pH-Meter gemessen. Er lag für Lösungen ohne Bikarbonat bei 4,8, für 5 mÄq/l bei 6,8, für 11 mÄq/l bei 7,15 und für 22 mÄq/l Bikarbonat bei 7,45. Der Natrium- und Kaliumgehalt der Lösung wurde mit einem Zeiss-Flammenphotometer ermittelt, die Osmolarität mit einem Osmometer (Precision System) überprüft.

Noradrenalin-Reinsubstanz war in 0,01 N HCL gelöst und wurde der bikarbonatfreien Stammlösung zugesetzt. Hatte sich der pH nach Zusatz von Noradrenalin verändert, wurde zurücktitriert, anschließend wurden die beiden Stammlösungen gemischt. pH und Bikarbonatgehalt in diesen Noradrenalinlösungen entsprach dem der Lösungen ohne Noradrenalin. Die endgültigen Lösungen mit und ohne Noradrenalin wurden ebenfalls mit Paraffinöl überschichtet.

Isoprenalin und Propranolol wurden als Trockensubstanz in die künstliche Liquor-Lösung mit 11 mÄq/l Bikarbonat eingewogen und mit der gleichen Lösung auf die benötigte Konzentration verdünnt. Lösungen von Isoprenalin wurden während des Versuchs mit wasserdampfgesättigtem O_2 -freiem Gas

(95 % N_2 , 5 % CO_2) durchperlt.

e) Statistik

α) Daten für Noradrenalin

Die beobachteten Durchmesseränderungen in Prozent des Kontrollwertes wurden statistisch mit einer 2 Faktoren-Varianzanalyse (51) ausgewertet (Faktoren: Katzen - Konzentrationen). Es wurde die Wirkung der Kontrolllösung (ohne Noradrenalin) und der Noradrenalkonzentration 5×10^{-7} , 5×10^{-6} , 5×10^{-5} und 5×10^{-4} M/l berücksichtigt. Als Daten wurde verwendet:

Der Durchschnitt zweier Messungen, 20 und 40 sec nach Beginn der Injektion am Testgefäß und der Durchschnittswert zweier Messungen zur gleichen Zeit an einem anderen Gefäß.

Zur Analyse wurden die Daten 5 beliebig verteilter Tiere herangezogen. Die in Bild 2, 3 und 4 gezeigten Kurven repräsentieren dagegen den Mittelwert aller Daten.

Eine andere Varianzanalyse wurde mit der drei Faktoren Katzen, Konzentrationen, wiederholte Dosis-Wirkungskurve durchgeführt. Hierbei sollte ermittelt werden, ob eine Wiederholung der Dosiswirkungskurve einen Einfluss auf die Gefäßreaktion habe.

β) Daten für Isoprenalin und Propranolol

Eine statistische Analyse wurde mit dem Wilcoxon-Test (52) durchgeführt. Signifikanzschranke: $p < 0.05$.

f) Untersuchungen über den Abbau von Katecholaminen.

Um die Haltbarkeit der verwendeten Katecholamine zu überprüfen, wurden in zwei verschiedenen Ansätzen Versuche an Ratten durchgeführt.

a) Versuche anhand von Blutdruckänderungen ganglienblockierter Ratten.

Männliche Sprague-Dawley-Ratten (200 g) wurden mit Inaktin (25 mg/200 g) betäubt und i.v. und i.a. katheterisiert. Der Blutdruck wurde über strain-gauge, Verstärker (Hellige) und Schreiber (Hellige) registriert. Ganglienblockade wurde mit Pentoliniumtartrat (3 mg/200 g) durchgeführt. Die Testsubstanzen wurden über den Katheter in der v.cava sup. in einem Volumen von jeweils 0.1 ml (0.1 ml NaCl-Nachspülung) injiziert.

Noradrenalin-Reinsubstanz wurde in Lösungen mit einem Bikarbonatgehalt von 0, 11 und 22 mMq/l angesetzt, die Konzentration lag bei 2.5×10^{-5} M/l. Diese Lösungen wurden über 6-8 Stunden aufbewahrt, die Zeit, die sie auch während der Versuche standen. Durch Verdünnung wurden Noradrenalin Dosen zwischen 5×10^{-7} g und 3×10^{-8} g hergestellt und injiziert. Die Wirkung wurde jeweils über die registrierten Blutdruckänderungen bestimmt.

Eine vergleichende Dosis-Wirkungskurve wurde aus Verdünnungen von statiliisiertem Noradrenalin-"Boeckh" gewonnen. Für eine vergleichsweise geringere Blutdruckwirkung von Rein-Noradrenalin wurde ein entsprechender Abbau dieser Substanz angenommen.

G, Versuche über den Abbau von Isoprenalin (isol. Rattenportalvene)

Es wurden männliche Sprague-Dawley-Ratten (150-250 g) verwendet. Die Tiere wurden durch Gefäßschlag getötet, der Bauchraum geöffnet, die Portalvene freipräpariert und ein etwa 3-15 mm langes Gefäßstück (Länge in vivo) entnommen. Das Venenstück wurde in eine Testkammer von 6ml Volumen gebracht, die mit einer modifizierten Krebs-Henseleit-Lösung (Na^+148 , $\text{K}^+5.9$, $\text{Mg} 1.17$, $\text{Ca}^{++}2.5$, HCO_3^-15 , $\text{Cl}^-138.7$, $\text{H}_2\text{PO}_4^-1.18$, $\text{SO}_4^{--}1.17$, Glukose 11.5 mM/l) gefüllt war und mit Carbogen (9 % CO_2 , 95 % O_2) durchperlt wurde. Durch die aufsteigenden Gasbläschen kam es zu einer guten Flüssigkeitszirkulation in der Kammer, die auf 37°C thermostatisiert war. Das untere Ende des Gefäßstücks wurde am Boden der Kammer befestigt, das obere mit einem Spannungsmessstreifen verbunden. Die Spannungseänderungen wurden über einen Heilige-Verstärker und einen Fixator-Schreiber (Geschwindigkeit 60 mm/min) simultan registriert.

Eine Vorspannung von 300-500 mg, je nach Länge des Präparats, ergab eine gute Spannungsentwicklung des sich rhythmisch kon-

trahierenden Gefäßmuskels. Es wurde etwa eine Stunde gewartet, bis sich eine ausreichend konstante Spontanrhythmik eingestellt hatte. Während dieser Zeit wurde die Badflüssigkeit mehrmals gegen frische, vorgewärmte Krebs-Henseleit-Lösung ausgetauscht. Testlösungen wurden in 1 ml Volumen gegeben. Entsprechend wurde vor Applikation 1 ml Flüssigkeit aus dem Bad entfernt. Nach jeder Testung wurde die Badflüssigkeit mindestens dreimal gewechselt und so lange gewartet, bis sich die ursprüngliche Höhe der Kontraktionsamplitude wieder eingestellt hatte.

Es wurden jeweils 10 Kontraktionsamplituden vor und 20 sec nach Gabe der Testsubstanz ausgemessen und gemittelt. Änderungen wurden in Prozent der Kontrolle bestimmt.

Isoprenalin-Reinsubstanz wurde in künstlichem Liquor mit einem Bikarbonatgehalt von 11 mMq/l eingewogen. Diese Isoprenalin-Stammlösung (Konzentration 1.25×10^{-3} M/l) wurde vor und während des ganzen Versuchs, 3-6 Stunden, mit O₂-freiem Gas (N₂ 95 %, CO₂ 5 %) durchperlt. 7 Verdünnungen im Bereich von 3×10^{-9} bis 3×10^{-7} M/l wurden vor Injektion aus der Stammlösung jeweils frisch mit Krebs-Henseleit-Lösung hergestellt. Die Konzentrationen entsprechen dem mittleren Bereich der Isoproterenol-Dosis-Wirkungs-Kurve für die Pia-gefäße. Vergleichskonzentrationen wurden ebenfalls jeweils frisch aus einem Isoprenalin-Handelspräparat (Boehringer) hergestellt. Weiter wurden aus der Stammlösung drei Verdünnungsreihen mit 7 bzw. 8 Konzentrationen im Bereich von 3×10^{-9} bis 3×10^{-7} M/l gewonnen. Die erste Reihe wurde gleich-

falls für 3-6 Stunden vor Applikation mit N_2/CO_2 durchperlt, die zweite Reihe im gleichen Zeitraum mit Paraffinöl überschichtet, die dritte erhielt einen Zusatz von Ascorbinsäure und wurde ebenfalls mit Öl überschichtet.

III. Ergebnisse

1. Wirkung von Bikarbonat

Die Dosis-Wirkungskurven wurden in durchschnittlich 8 Minuten aufgenommen (6 bzw. 8 Konzentrationen). Wiederholte Gabe von künstlichem Liquor mit unterschiedlichem pH zeigte, daß die Gefäßreaktion über diesen Zeitraum unverändert blieb (Bild 1). Bei einer Lösung ohne Bikarbonat dilatierten die Gefäße um durchschnittlich 45 %, bei einem Bikarbonatgehalt von 22 mÄq/l konstringierten sie um etwa 20 %.

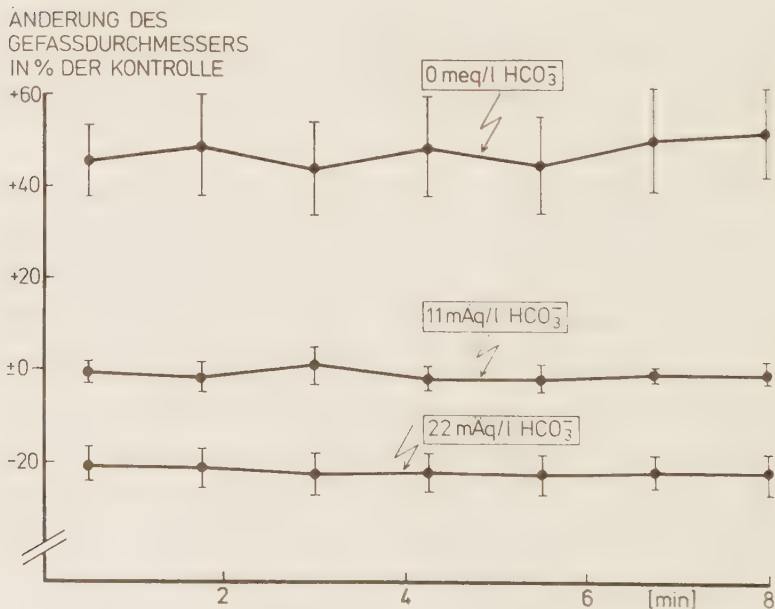


Bild 1

Zeitlicher Verlauf der Änderung im Gefäßdurchmesser bei wiederholter Gabe von künstlichem Liquor mit einer Bikarbonatkonzentration von 0, 11 oder 22 mÄq/l. Die Durchmesseränderungen bleiben über 8 min konstant, - die Zeit, die zum Aufnehmen einer Dosiswirkungskurve benötigt wurde - .
Mittelwerte $\pm$ SE, von sieben Gefäßen

Keine Wirkung auf den Gefäßdurchmesser hatte die Lösung mit 11 mÄq/l. Dieser Wert entspricht nur der halben Bikarbonatkonzentration, wie sie im Zisternenliquor von Katzen mit gleichem arteriellen $p\text{CO}_2$ gefunden worden ist. (53). Da lokaler pH und Bikarbonatkonzentration im perivaskulären Raum von Piagefäßen noch nicht bestimmt werden konnten, kann nicht entschieden werden, ob 11 mÄq/l tatsächlich die lokale Bikarbonatkonzentration am Gefäßmuskel darstellen.

2. Die Wirkung von Noradrenalin

Noradrenalinlösungen im künstlichen Liquor mit einem Bikarbonatgehalt von 11 mÄq/l wurden an die Gefäßwand arterieller Piagefäße injiziert und führten zur Abnahme des Gefäßdurchmessers. Die Konstriktion war auf die Injektionsstelle beschränkt. Blutdruck und endexpiratorischer CO_2 -Gehalt änderten sich während der Injektionszeit nicht.

Bild 2 zeigt in den Dosis-Wirkungskurven eine konzentrationsabhängige Durchmesserabnahme. Es wurden Konzentrationen von 5×10^{-7} – 5×10^{-3} M/l getestet. Eine Varianzanalyse bestätigte, daß die Konzentrationseffekte signifikant waren ($p < 0.01$). Die maximale Abnahme des Gefäßdurchmessers betrug 40 %, bei einer NoradrenalinKonzentration von 2.5×10^{-3} mM/l. Die niedrigste Konzentration, die nach der Tukey-Methode (51) einen signifikanten Konstriktionseffekt hatte, lag bei 5×10^{-5} mM/l. Der Verlauf der Sammelkurve entspricht der Reaktion am Einzelgefäß.

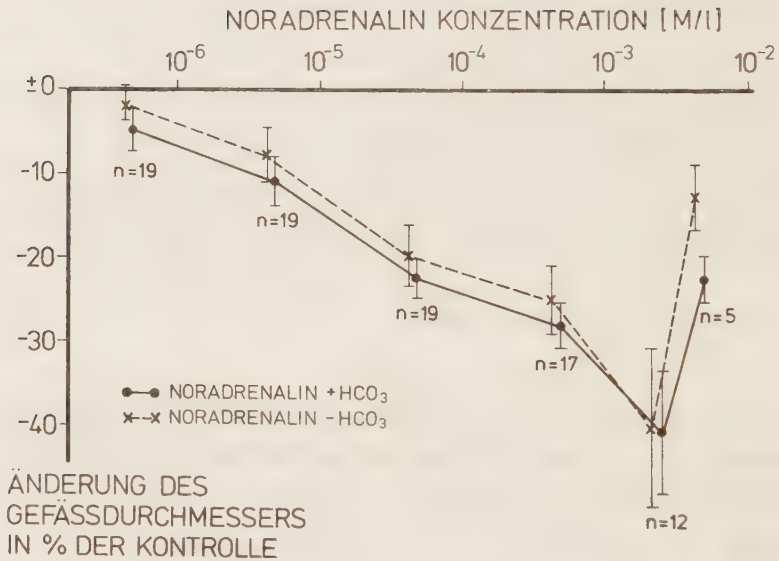


Bild 2

Dosis-Wirkungskurve für Noradrenalin in künstlichem Liquor mit einem Bikarbonatgehalt von 11 mÄq/l (durchgezogene Linie). Die gestrichelte Linie entspricht der reinen Noradrenalinwirkung nach Abzug der Bikarbonatwirkung. Mittelwerte $\pm$ SE

Obwohl die Bikarbonatkonzentration von 11 mÄq/l per se im Durchschnitt keine Wirkung auf den Gefäßdurchmesser hatte (Bild 1), konnte ein geringer Effekt am jeweiligen Piagefäß nicht ausgeschlossen werden. Um diesen Effekt zu erfassen, wurde vor Beginn jeder Dosis-Wirkungskurve 11 mÄq/l Bikarbonat alleine gegeben und die Wirkung vom Noradrenalin-effekt abgezogen. Die so erhaltene Dosis-Wirkungskurve für Noradrenalin alleine ist in Bild 2 als gestrichelte Linie

dargestellt. Dieser unspezifische Bikarbonateffekt machte im Durchschnitt 2.1 % der Gesamtwirkung aus.

Die Wirkung von Noradrenalin auf den Gefäßdurchmesser war unabhängig von der Gefäßgröße. In Bild 3 ist der Gefäßdurchmesser gegen die Größe der Durchmesserabnahme aufgetragen.

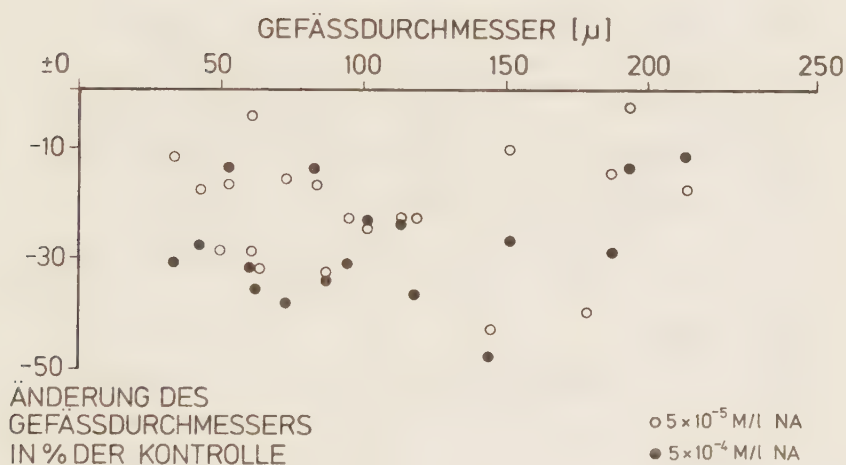


Bild 3

Beziehung zwischen der ursprünglichen Gefäßgröße und der prozentualen Abnahme des Gefäßdurchmessers nach Gabe von 5×10^{-4} M/l und 5×10^{-5} M/l Noradrenalin.

Noradrenalin (5×10^{-5} und 5×10^{-4} M/l) wurde an Gefäßen von 30-220 μ getestet. Zwischen Gefäßgröße und prozentualer Durchmesserabnahme bestand keine Korrelation. Alle Durchmesseränderungen wurden deshalb in Prozent des Kontrolldurchmessers angegeben. Ebenso wurde auch die Varianzanalyse an den Prozentwerten durchgeführt.

3. Noradrenalinwirkung unter verschiedenen Bikarbonatkonzentrationen.

Bild 4 zeigt NA-Dosis-Wirkungskurven unter Bikarbonatkonzentrationen von 0, 4 und 22 mÄq/l (Bild 4, oben). Bei 0 Bikarbonat dilatierten die Gefäße, zeigten aber gleichwohl eine dosisabhängige Durchmesserabnahme auf Noradrenalin. Selbst bei der höchsten Noradrenalinkonzentration von 5 mM/l allerdings konnte die durch die bikarbonatfreie Lösung hervorgerufene Dilatation der Gefäße nicht voll kompensiert werden.

Während 22 mÄq/l Bikarbonat per se eine Durchmesserabnahme von 20 % bewirkten (Bild 1), konnte Noradrenalin unter diesen Bedingungen den Konstriktionseffekt nicht verstärken. Die Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurve bei 11 mÄq/l Bikarbonat aus Bild 2 ist ebenfalls eingezeichnet. Der Noradrenalin effekt bei einer Konzentration von 2.5 mM/l übertrifft in dieser Kurve deutlich den der 22 mÄq/l Bikarbonat-Kurve.

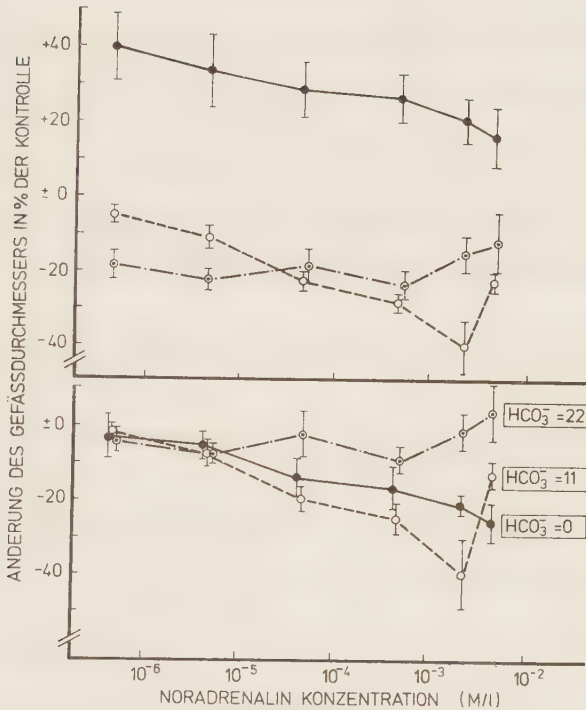


Bild 4

Dosis-Wirkungskurven von Noradrenalin in künstlichem Liquor bei unterschiedlichem Bikarbonatgehalt
 Die Kurven zeigen Mittelwerte $\pm$ SE
 Schwarze Kreise: 0 mMq/l Bikarbonat
 Weiße Kreise: 11 mMq/l Bikarbonat
 Getüpfelte Kreise: 22 mMq/l Bikarbonat

Der obere Teil des Bildes zeigt die kombinierte Wirkung von Noradrenalin und künstlichem Liquor.

Der untere Teil des Bildes zeigt die reine Noradrenalinwirkung nach Abzug der Bikarbonatwirkung.

Der untere Teil von Bild 4 enthält die Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurven nach Abzug des pH-Effekts bzw. HCO_3 -Effekts. Die Wirkung der Bikarbonatkonzentrationen alleine, die vor Beginn der Dosis-Wirkungskurven ausgetestet worden war, ist von den Kurven aus dem oberen Teil von Bild 4 abgezogen. Bei 22 mÄq/l Bikarbonat hat Noradrenalin über den ganzen getesteten Konzentrationsbereich keine konstringierende Wirkung mehr. In bikarbonatfreier Lösung führt Noradrenalin zu einer dosisabhängigen Konstriktion, die aber geringer ist als in Lösungen mit 11 mÄq/l Bikarbonat.

4. Die Wirkung von Isoproterenol und Propranolol.

Für die Untersuchungen über β -Rezeptoren erschien es sinnvoll, Dosis-Wirkungskurven beider Isomere des β -Blockers Propranolol aufzunehmen, um zwischen spezifisch β -blockierender und unspezifischer Wirkung von Propranolol besser unterscheiden zu können. Wie aus Untersuchungen am Myocard und Skelettmuskelgefäßen bekannt ist (53, 54), entfaltet das (-)- Isomer seine β -blockierende Wirkung in Dosen, die 20-100 fach niedriger liegen als die des (+)- Isomer. Die unspezifische Wirkung ist bei beiden gleich.

Bild 5, obere Hälfte, zeigt die beiden Dosis-Wirkungskurven der Propranolol-Isomere. Sie verlaufen identisch. Zwischen 3×10^{-9} und 3×10^{-4} M/l zeigen beide Isomere keine signifikante Wirkung. Bei einer Konzentration von 3×10^{-3} M/l haben beide einen stark dilatierenden Effekt von 50-60 % .

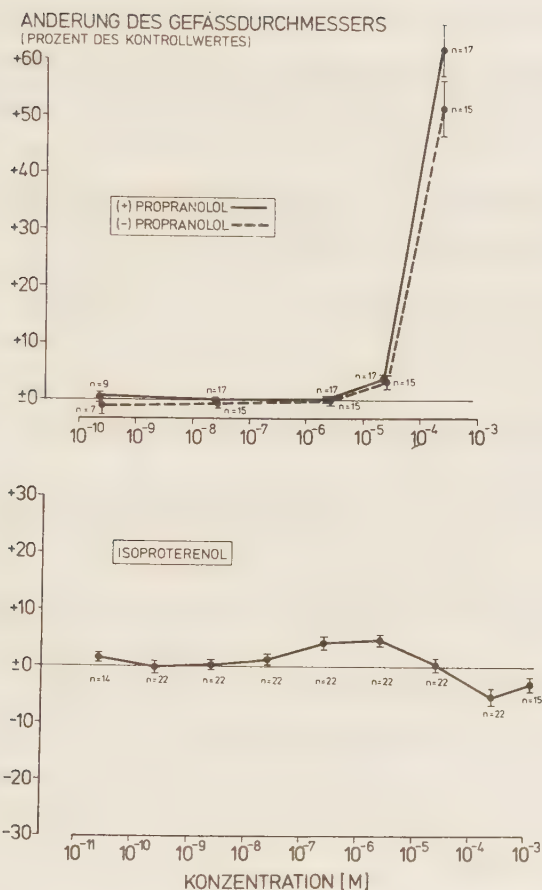


Bild 5

Dosis-Wirkungskurven für die beiden Propranolol-Isomere und Isoproterenol in künstlichem Liquor (Bikarbonatgehalt 11 mMq/l)

Mittelwerte $\pm$ SE; n = Anzahl der getesteten Gefäße

Der obere Bildteil zeigt die Propranololwirkung

Durchgezogene Linie: (+)-Isomer

Gestrichelte Linie: (-)-Isomer

Der untere Bildteil zeigt die Isoproterenolwirkung

Die Dosis-Wirkungskurve für Isoproterenol (Bild 5, untere Hälfte) verläuft, im Ganzen gesehen, recht flach. Zwischen 5×10^{-7} und 3×10^{-4} M/l deutet sich eine leichte Dilatation an, wobei die 4 %ige Dilatation bei 5×10^{-5} M/l signifikant von Null verschieden ist. In den höheren Konzentrationen kommt es zu einer leichten Konstriktion, die 5 % nicht überschreitet. Die Wirkung von 3×10^{-3} M/l ist signifikant von Null unterschieden.

5. Wirkungsverlust der Katecholaminlösungen im Laufe der Versuchsdauer

a) Abbau von Noradrenalin im Laufe von 6-8 Stunden.

Ausgehend von einer Noradrenalkonzentration von 2.5×10^{-5} M/l wurden 5 Dosen zwischen 5×10^{-7} und 3×10^{-8} g gegeben. Für Noradrenalin in Lösungen ohne Bikarbonat (pH 4.8) konnte gegenüber dem stabilisierten Noradrenalin-"Hoechst" kein Wirkungsverlust festgestellt werden. Noradrenalin in 0 Bikarbonat wurde deshalb als Kontrolle für die übrigen Lösungen verwendet.

Für Noradrenalin in 20 mMq/l Bikarbonat (pH 7.45) ging der blutdrucksteigernde Effekt auf 46.4 % ($SD \pm 30.98$, $n = 39$) zurück. Für Noradrenalin in 10 mMq/l Bikarbonat (pH 7.15) lag der Effekt bei 46.6 % ($SD \pm 21.96$, $n = 21$) der Kontrolle.

b) Abbau von Isoproterenol im Laufe von 3-6 Stunden

Die mittlere Spontanfrequenz der isolierten Portalvene lag bei $2,69 \pm 0,67/\text{min}$ (38°C). Sie blieb bei den einzelnen Präparaten über die Dauer des Versuchs recht konstant. Die Kontraktionskraft betrug im Mittel $208 \pm 85\text{ mg}$. Bild 6 zeigt die Dosiswirkungskurven für die Isoproterenol-Stammlösung ($1,25 \times 10^{-3}\text{ M/l}$, 3-6 Stunden mit O_2 -freiem Gas durchperlt) und für Isoproterenol aus der Ampulle (Aludrin-133 g-Boehringer). Die benötigten Konzentrationen wurden jeweils frisch vor der Injektion verdünnt. Die beiden Dosis-Wirkungskurven unterschieden sich an keinem Punkt signifikant voneinander ($p > 0,01$).

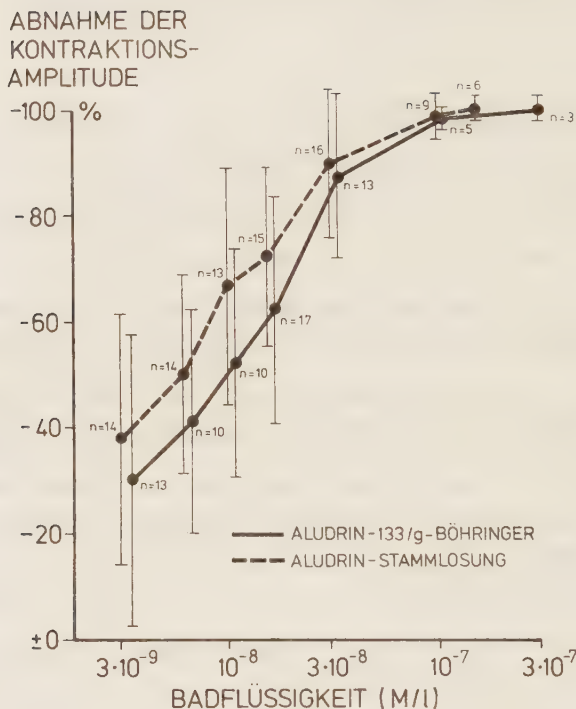


Bild 6

Dosis-Wirkungskurven für Isoproterenol an der Ratten-Portalvene
 Durchgezogene Linie: Getestete Konzentrationen jeweils frisch aus einem stabilisierten Handelspräparat (Aludrin-133 g-Boehringer) verdünnt.

Gestrichelte Linie: Getestete Konzentrationen jeweils frisch aus einer Isoproterenol-Stammlösung ($1,25 \times 10^{-3}$ M/l) verdünnt, die für 3-6 Stunden mit O_2 -freiem Gas (95% N_2 , 5 CO_2 , wasserdampfgesättigt) durchperlt worden war.

Mittelwerte $\pm$ SE ; n = Anzahl der Tests

Der Vergleich der beiden Kurven macht deutlich, daß es in der Stammlösung (durchperlt mit O_2 -freiem Gas) auch bei längerem Stehenlassen zu keinem hier meßbaren Abbau von Isoproterenol kommt. Die Dosis-Wirkungskurve für frisch verdünnte Konzentrationen aus der Stammlösung kann also als Referenzkurve für Dosis-Wirkungskurven gelten, die unter anderen Bedingungen aufgenommen worden sind.

Im Bild 7 ist die Dosis-Wirkungskurve für die Isoproterenol-Stammlösung aus Bild 1 mit derjenigen Kurve verglichen, deren einzelne Konzentrationen (3×10^{-9} - 3×10^{-7} M/l) für 3-6 Stunden unter Durchperlung mit O_2 -freiem Gas stehengelassen worden war.

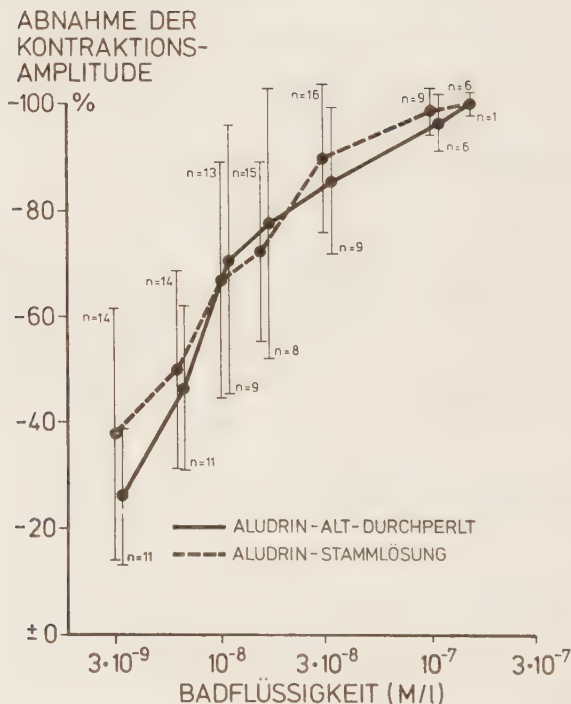


Bild 7

Dosis-Wirkungskurven für Isoproterenol an der Ratten-Portalvene

Gestrichelte Linie: Getestete Konzentrationen jeweils frisch aus einer Isoproterenol-Stammlösung $1,25 \times 10^{-2}$ M/l verdünnt, die für 3-6 Stunden mit O_2 -freiem Gas durchperlt worden war.

Durchgezogene Linie: Konzentrationen aus der Isoproterenol-Stammlösung $1,25 \times 10^{-3}$ M/l verdünnt und anschließend für 3-6 Stunden mit O_2 -freiem Gas durchperlt.

Mittelwerte $\pm$ SE ; n = Anzahl der Tests

Der Abbau von Katecholaminen soll bekanntlich in niedrigeren Konzentrationen schneller verlaufen als in höheren (55). Es war deshalb besonders wichtig zu untersuchen, ob mit Hilfe der Durchperlung mit O_2 -freiem Gas ein Wirkungsabfall in den benötigten Isoprenalin-Konzentrationen während des Versuchs vermieden werden konnte. Die Konzentrationen entsprechen dem mittleren Bereich der Isoproterenol-Dosis-Wirkungskurve für Piagefäße. Die beiden Kurven sind an keinem Punkt signifikant voneinander verschieden.

Die Übereinstimmung der Kurven weist darauf hin, daß Durchperlung mit O_2 -freiem Gas auch hoch verdünnte Isoproterenollösungen, wie sie für die Untersuchungen an Piagefäßen benötigt werden, gegen einen Abbau durch Autoxydation hinreichend schützen kann.

Bild 8 stellt die Dosis-Wirkungskurve für frisch verdünnte Konzentrationen aus der Isoproterenol-Stammlösung zwei Kurven gegenüber, deren einzelne Konzentrationen für 3-6 Stunden unter Paraffinöl gestanden hatten, die eine Konzentrationsreihe hatte außerdem einen Zusatz von Ascorbinsäure.

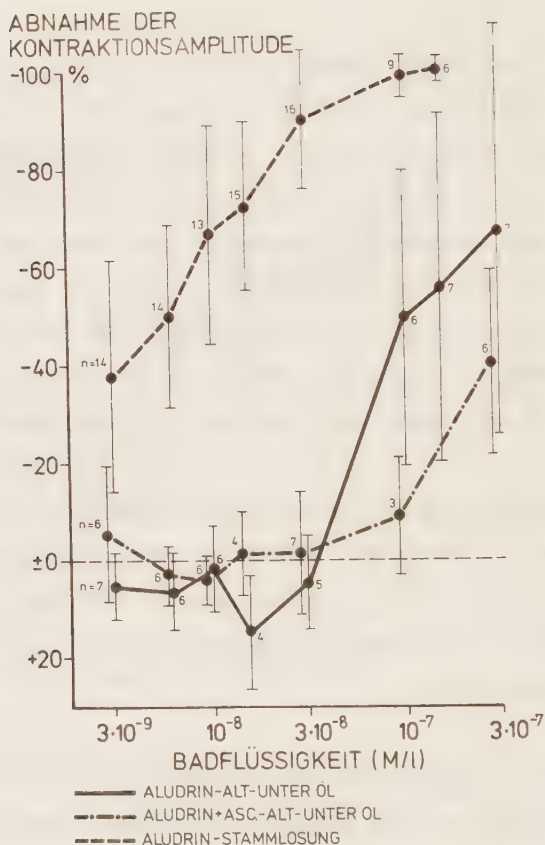


Bild 8

Dosis-Wirkungskurven für Isoproterenol an der Ratten-Portalvene
 Gestrichelte Linie: Getestete Konzentrationen jeweils frisch aus einer Isoproterenol-Stammlösung ($1,25 \times 10^{-3}$ M/l) verdünnt, die für 3-6 Stunden mit O_2 -freiem Gas durchperlt worden war.

Durchgezogene Linie: Konzentrationen aus der Isoproterenol-Stammlösung ($1,25 \times 10^{-3}$ M/l) verdünnt und anschließend für 3-6 Stunden mit Paraffinöl überschichtet.

Strichpunktierte Linie: Konzentrationen aus der Isoproterenol-Stammlösung ($1,25 \times 10^{-3}$ M/l) verdünnt und anschließend für 3-6 Stunden mit Paraffinöl überschichtet. Zusatz von Ascorbinsäure.

Mittelwerte $\pm$ SE ; n = Anzahl der Tests

Der Vergleich zeigt, daß eine Überschichtung der Iso-proterenollösung mit Paraffinöl und der Zusatz von Ascorbinsäure allein in dem untersuchten Konzentrationsbereich keinen wirksamen Schutz gegen den Abbau von Iso-proterenol bieten können. Der Verlauf der Dosiswirkungskurven ist weit nach rechts verschoben, die wirksame Iso-proterenolkonzentration um mehr als den Faktor 10 vermindert.

IV. Diskussion

1. Methodik

a) Mikroapplikationsversuche

Der arterielle pCO_2 der Versuchstiere entspricht den Werten, die bei wachen Katzen gefunden wurden (56,57). Der arterielle pH liegt dagegen, im Vergleich zu wachen Katzen, etwas niedriger. Dieser Unterschied könnte durch eine leichte metabolische Acidose, hervorgerufen durch die Chloralose-Anaesthesie, erklärt werden. Wie Harper und Bell (1963) jedoch an Hunden zeigten, bleibt bei konstantem arteriellen pCO_2 die Hirndurchblutung konstant, auch wenn der arterielle pH zwischen 6,74 und 7,80 variiert wird (58). Der etwas zu niedrige pH dürfte also keinen störenden Einfluß auf die Versuchsergebnisse gehabt haben.

Um sicherzustellen, daß es bei der Entfernung von Knochen und Dura zu keiner Schädigung der Hirngefäße mit einer Zerstörung der Blut-Hirn-Schranke kommt, wurde in Zusatzversuchen Evans-Blue intravenös injiziert. Es kam zu einer intensiven Blaufärbung der Gefäße, jedoch zu keinem Durchtritt des Farbstoffes in das umliegende Gewebe. Lediglich nach längerer Beobachtungsdauer konnte eine leichte Blautönung in den Randbezirken des untersuchten Gefäßareals festgestellt werden.

Trotz Ölschutz an Spitze und Ende der Mikropipetten konnte die Möglichkeit von CO_2 -Verlusten aus den Testlösungen nicht ausgeschlossen werden. Gefüllte Kapillaren wurden deshalb für zwei Stunden, der längsten Zeit während des Versuchs, aufbewahrt und der Gesamt- CO_2 Gehalt der Lösung in einer Natelson Mikro-Van-Slyke-Analyse bestimmt. Es konnte keine Änderung des pCO_2 und der Bikarbonatkonzentration festgestellt werden.

Die beiden Methoden zur Bestimmung des Gefäßdurchmessers, das Ausmessen von Photographien und die image-splitting-Methode wurden auf ihre Reproduzierbarkeit überprüft.

Mehrmaliges Ausmessen des Gefäßdurchmessers des gleichen Gefäßes anhand einer Photographie ergab eine Standardabweichung von $\pm 1,5 \mu$ ($n = 50$), unabhängig vom Kaliber der Gefäße, der zwischen 25μ und 208μ lag. Die gleiche Abweichung ergab sich bei mehrmaligem Photographieren des gleichen Gefäßes und bei einmaligem Ausmessen des Durchmessers.

Für die image-splitting Methode betrug die Abweichung bei 74 Messungen $\pm 1,2 \mu$. Die Gefäßdurchmesser lagen zwischen 30 und 200μ .

Während sich die Reproduzierbarkeit beider Methoden gleicht, hat die image-splitting-Methode den Vorteil, daß während des Versuchs nach jeder Testung genau festgestellt werden kann, ob das Gefäß seinen Ausgangsdurchmesser wieder erreicht hat.

Das O_2 -freie Gas, mit dem die Isoproterenollösungen während des Versuchs durchperlt wurden, mußte wasserdampfgesättigt sein, da es sonst rasch zu einer Veränderung der Osmolarität und Elektrolytkonzentration gekommen wäre, Faktoren, die einen großen Einfluß auf den Gefäßdurchmesser haben, wie in früheren Untersuchungen gezeigt werden konnte (46, 59).

Die hier angewandte Mikroapplikationstechnik hat gegenüber der Schädelfenster-Methode den Vorteil der streng lokalen Beschränkung. Es wurden nur wenige Mikroliter Testlösung für das Teilstück einer einzigen Arteriole benötigt. Bei der Window-Technik wird das ganze beobachtete Gefäßareal mit der Testlösung überspült, Resorption und sekundäre Durchblutungseffekte können nicht ausgeschlossen werden. Zudem ermöglicht die Mikroapplikationstechnik die vorherige Testung der Funktionsfähigkeit jedes einzelnen Gefäßstücks anhand der Reaktion auf die Gabe verschiedener Bikarbonatlösungen.

Für die Untersuchung des pH-Einflusses auf die Noradrenalinwirkung wäre das beste Vorgehen gewesen, am selben Gefäß mehrere Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurven mit unterschiedlichem Bikarbonatgehalt aufzunehmen. Ob eine solche wiederholte Durchführung von Dosiswirkungskurven am selben Gefäß die Gefäßreaktion ändert, wurde an fünf Gefäßen untersucht, an denen jeweils zwei Dosis-Wirkungskurven für Noradrenalin, bei einer Bikarbonatkonzentration von 11 mÄq/l aufgenommen wurden (Noradrenalin 5×10^{-7} - 5×10^{-3} M/l). Die Varianzanalyse ergab eine signifikant niedrigere Konstriktionswirkung für die zweite Dosis-Wirkungskurve ($p < 0.01$). Wenn eine einzige Konzentration

(5×10^{-4} M/l) siebenmal am gleichen Gefäß getestet wurde, blieb die Reaktion für die ersten drei Testungen gleich und war dann schwächer.

Aus diesen Gründen wurde an einem Gefäß nur eine Dosis-Wirkungskurve durchgeführt. Da bei der Window-Methode jeweils das ganze Gefäßareal mit Testlösung gespült wird, kann aus diesen Ergebnissen vermutet werden, daß diese Methode zu niedrigeren Werten in der Noradrenalin-Wirkung auf die Hirngefäße führt, sofern mehr als eine Dosis-Wirkungskurve über demselben Gefäßareal aufgenommen werden.

Die relativ schwache konstringierende Wirkung von 5×10^{-3} M/l Noradrenalin kann nicht durch eine geringere Empfindlichkeit des Gefäßes aufgrund der vorherigen Gabe anderer Noradrenalkonzentrationen in Verlauf der Dosis-Wirkungskurve erklärt werden. Wurden 5×10^{-3} M/l Noradrenalin an Gefäßen getestet, ohne daß vorher andere Konzentrationen verwandt worden wären, ergab sich die gleiche konstringierende Wirkung wie innerhalb einer Dosis-Wirkungskurve.

b) Untersuchungen über den Abbau von Katecholaminen

Da die Untersuchungen anhand des Blutdrucks ganglienblockierter Ratten sich als recht grob erwiesen und die Ergebnisse relativ stark streuten, wurde für die Versuche mit Isoprenalin die isolierte Rattenportalvene verwendet. Die Vorspannung des Gefäßstücks mit 300-500 g stimmt mit den von Strubbe et al und Johansson et al (60, 61) angegebenen Werten gut überein.

Die Kontraktionsamplitude entspricht der bei Voth et al. (62) dargestellten Relation von Vorspannung und Kontraktionsamplitude. Ebenso ist die Frequenz mit den in der Literatur angegebenen Werten vergleichbar. Isoproterenol-Wirkbereich und Effekt auf die Kontraktionsamplitude entsprechen den bei Voth et al. (62) und Johansson et al. (61) angegebenen Werten.

Die häufig beschriebene Zunahme der Frequenz nach Gabe von Isoprenalin wurde hier ebenfalls beobachtet. Für die quantitative Bestimmung des Isoprenalinelinkes wurde sie allerdings nicht verwertet.

2. Ergebnisse

a) Noradrenalin

Eine dosisabhängige Konstriktion der Piaarteriolen bei lokaler Gabe von Noradrenalin spricht für die Möglichkeit einer adrenergen Kontrolle der Hirngefäße, stellt aber keinen direkten Hinweis dafür dar.

Fraser et al. (1971) beobachteten eine Vasokonstriktion, wenn sie die a. basilaris und die aa. vertebrales subarachnoidal mit Noradrenalin (10^{-5} - 10^{-3} M/l) bspülten (47).

Raper et al. (1972) wandten die Window-Technik an, konnten aber mit Noradrenalin (5×10^{-6} - 10^{-4} M/l) keine Vasokonstriktion entdecken (25). Der Bikarbonatgehalt aller ihrer Lösungen lag bei 25 mMq/l, der pH bei 7.3-7.4. Noradrenalinlösungen mit diesem Bikarbonatgehalt haben jedoch keine konstriktorische Wirkung mehr, die über die Bikarbonatwirkung hinausgeht

(s. Bild 4).

Die Window-Technik (siehe auch Diskussion zur Methode) wurde auch zu Untersuchungen des Adrenalineffektes an Hirngefäßen benutzt (13-15, 21, 32, 33). Die meisten Ergebnisse sprechen für eine konstriktorische Wirkung von Adrenalin. In einer Voruntersuchung konnte mit der Mikroapplikationstechnik ebenfalls eine Verminderung des Gefäßdurchmessers nach Gabe von Adrenalin gezeigt werden (63).

Die Ergebnisse bei lokaler Gabe von Katecholaminen stehen im Widerspruch zu Untersuchungen, in denen Katecholamine intravasal angeboten wurden und deren Daten bei kritischer Prüfung keinen Hinweis auf eine direkte Katecholaminwirkung auf die Hirngefäße ergeben können. Dieser Unterschied könnte auf zweierlei Weise erklärt werden.

Um sekundär Effekte durch Blutdrucksteigerung etc. zu vermeiden, können nur begrenzte Mengen Noradrenalin in die Carotis injiziert werden. Die maximale Blutkonzentration in der Carotis läßt sich so auf 5×10^{-6} M/l Noradrenalin berechnen. Diese Konzentration hat bei lokaler Gabe eine nicht signifikante Abnahme des Gefäßdurchmessers um 1,8 % zur Folge.

Die Applikation von Noradrenalin von der Blutseite aus erreicht also bei Verminderung von Nebeneffekten nur einen Konzentrationsbereich, in dem es praktisch noch zu keiner Konstriktion der Gehirngefäße kommt, selbst wenn es keine Blut-Hirn-Schranke für Noradrenalin gäbe.

Eine solche Barriere könnte generell den Kontakt der Blut-

Katecholamine zu der glatten Gefäßmuskelzelle verhindern (64-67). Das würde allerdings voraussetzen, daß die Barriere für Katecholamine anstatt in der Glia-scheide im Endothel liegt, wie das auch für andere Substanzen nachgewiesen wurde (68,69).

Falls die Konzentration der Testlösungen derjenigen Konzentration entspricht, die während der Applikation tatsächlich um das Gefäß herrscht, sind die Hirngefäße auf Noradrenalin deutlich unempfindlicher als die Gefäße in anderen Organen. Für eine Durchmesserabnahme um 15% muß die Noradrenalin-konzentration 10 mal höher sein als im Gefäßgebiet der a. mesenterica und um 400 mal höher als in der a. cremasterica, für eine Abnahme des Durchmessers um 100% 500, bzw. 25000 mal höher (70).

Eine solche relative Unempfindlichkeit der Hirngefäße gegenüber Katecholaminen wurde von verschiedenen Autoren gefunden (16, 26, 28, 30, 40). Der Organismus in seiner Gesamtheit reagiert auf Katecholamine also viel empfindlicher als die Gehirngefäße, wie das auch besonders die Problematik der intravasalen Applikation von Katecholaminen deutlich zeigt.

Für diese relative Unempfindlichkeit der Hirngefäße auf Noradrenalin könnte es verschiedene Erklärungen geben:

1. Eine schwer durchlässige Barriere für Noradrenalin, sowohl von der Blutseite wie von der Gewebseite her,
2. eine höhere Abbaurate für Noradrenalin durch eine höhere Konzentration von Monoaminoxidase oder Katechol-O-Methyltransferase oder beidem,
3. eine geringere Anzahl von Rezeptoren,
4. eine relativ höhere Aufnahme von Noradrenalin in die Terminalvesikel, bedingt durch die intensive adrenerge Nervenversorgung der Gehirngefäßmuskulatur. Die Möglichkeit einer stärkeren Aufnahme würde selbst bei hohem exogenen Noradrenalinangebot zu einer niedrigen effektiven Rezeptorkonzentration führen.

Die Befunde von Trendelenburg et al (71,72) sprechen für die letzte Annahme. Nach ihren Angaben enthält der mediale Muskel der Nickhaut bei Katzen die doppelte Menge an endogenem Noradrenalin und nimmt die doppelte Menge an exogenem Noradrenalin auf als der untere Muskel. Die adrenerge Nervenfaserversorgung ist in diesem Bereich ebenfalls deutlich stärker. Auf der anderen Seite ist die Empfindlichkeit dieses Muskels auf Noradrenalin signifikant niedriger als die im unteren Muskel. Die Empfindlichkeit auf exogen angebotenes Noradrenalin könnte also umgekehrt proportional der adrenergen Faserdichte sein. Nielsen und Owman (1971) vermuten aus ihren Ergebnissen an isolierten Hirngefäßen ebenfalls eine Beeinflussung der Noradrenalinwirkung durch uptake-Mechanismen (27).

Bei der Mikroapplikation von Noradrenalin setzte die lokale Vasokonstriktion der Piaarteriolen 3-4 sec nach Beginn der Injektion ein. Eine solche schnelle Gefäßreaktion, wie sie auch Meyer et al (1967) für die Stimulation des Halssympathikus fanden, spricht für eine direkte Wirkung auf den glatten Gefäßmuskel, im Sinne einer Erregung der α -Rezeptoren. Ähnliche konstriktorische Noradrenalineffekte an isolierten Präparaten, mit zum Teil noch niedrigeren Konzentrationen, weisen ebenfalls auf eine direkte Noradrenalinwirkung hin (26, 27).

Der Noradrenalineffekt auf die Hirngefäße wird durch die Bikarbonatkonzentration beeinflusst. So ist der Verlauf der Noradrenalin-Dosis-Wirkungskurve in bikarbonatfreier Lösung flacher als der in einer Lösung mit 11 mÄq/l Bikarbonat. Eine solche Wirkungsverminderung im sauren Milieu konnte auch von Peiper et al (73, 1970) an Aortenstrip-Präparaten gezeigt werden. Ein Wirkungsverlust infolge von Noradrenalinabbau konnte für bikarbonatfreie Lösungen anhand der Blutdruck-Untersuchungen ausgeschlossen werden (siehe Ergebnisse).

Bei einem Bikarbonatgehalt von 22 mÄq/l ist keine Eigenwirkung von Noradrenalin an den Piagefäßen mehr zu beobachten. Zwar ergaben die Blutdruckversuche für Lösungen mit 11 (pH 7,15) und 22 mÄq/l Bikarbonat (pH 7,45) einen

Noradrenalin-Wirkungsverlust von je 54%. Bei dem großen getesteten Konzentrationsbereich würde das aber nur eine leichte Rechtsverschiebung beider Dosis-Wirkungskurven zur Folge haben. Das völlige Verschwinden der Noradrenalinwirkung bei 22 mMq/l könnte dadurch nicht erklärt werden, ebenso wenig der große Wirkungsunterschied der beiden Bikarbonatlösungen. Ein direkter pH-Einfluß auf die Rezeptoren oder die Wirksubstanz liegt nahe. Maximale Noradrenalinwirkung kann offenbar nur in einem Milieu erreicht werden, das selbst keinen Einfluß auf den Gefäßtonus hat, in Lösungen mit 11 mMq/l Bikarbonat.

Die Piaarteriolen reagieren dosisabhängig auf extravasal angebotenes Noradrenalin. Falls die Hirngefäße einer adrenergen Kontrolle unterliegen, läßt sich aus diesen Ergebnissen vermuten, daß die Effektivität einer solchen Kontrolle abhängig ist vom perivaskulären pH.

b) Isoproterenol und Propranolol

Während die konstriktorische Wirkung von Noradrenalin auf die Piaarteriolen auf das Vorhandensein von α -Rezeptoren im Gehirnkreislauf hinweist, deuten die Ergebnisse für Isoproterenol und Propranolol an, daß β -Rezeptoren für die Tonusregulation der Piaarteriolen nur eine geringe Rolle spielen.

Die beiden Propranololisomeren hatten über einen Konzentrationsbereich von $2,5 \times 10^{-4}$ - $2,5 \times 10^{-6}$ M/l keine Wirkung auf den Gefäßdurchmesser. Die Dosis-Wirkungskurve für (+) und (-) Propranolol hatten außerdem einen identischen Verlauf. Falls β -Rezeptoren in die Widerstandsregulation der Gefäße eingreifen, wäre ein unterschiedlicher Verlauf beider Kurven zu erwarten gewesen, da aus Untersuchungen am Myocard und an Skelettmuskelarterien bekannt ist, daß (-)-Propranolol seine spezifisch β -blockierende Wirkung in geringeren Konzentrationen entfaltet als das (+)-Isomer und daß beide den gleichen unspezifischen Effekt haben.

Aus der gleichen Wirkungskurve beider Substanzen hat Shanks (54) ebenfalls auf das Fehlen eines β -adrenergen Tonus, hier der Skelettmuskelgefäße, geschlossen. Voraussetzung für diesen Schluß ist, daß die unterschiedliche spez. β -blockierende Wirkung beider Isomere für Piaarteriolen ebenso gilt wie für das Myocard und die Muskelgefäße. Die Voraussetzung konnte hier nicht überprüft werden, da eine Verschiebung der Isoproterenol-Dosis-Wirkungskurve durch die beiden Propranolol-Isomeren wegen der generell schwachen Gefäßreaktion auf Isoproterenol nicht deutlich wurde.

Der starke Dilatationseffekt von (-) und (+) Propranolol erscheint als unspezifisch und entspricht der lokalanaesthetischen Wirkung, die beide Isomere in hohen Konzentrationen entfalten.

Ein Vergleich mit früheren Vorversuchen (75) legt die Vermutung nahe, daß die damals beobachtete starke Dilatation ebenfalls auf einem unspezifischen Effekt des β -Blockers K8 592 beruht.

Rosenblum (1969) konnte einen BaCl_2 -Spasmus der Hirngefäße mit Propranolol aufheben (49). Die dazu benötigte Dosis (3×10^{-4} M/l) hatte im Rahmen dieser Untersuchung eine unspezifische Wirkung an Piaarteriolen. Es liegt nahe, die Aufhebung des BaCl_2 -Spasmus ebenfalls als unspezifischen Propranolol-Effekt anzusehen. Allerdings betont Rosenblum, daß die tatsächliche Konzentration am Hirngefäß nicht exakt zu bestimmen war. Zudem ist ein Vergleich zwischen der Aufhebung eines BaCl_2 -Spasmus mit der Dilatation eines "normalen" Gefäßes nur mit Vorbehalten durchzuführen.

Fujishima et al (1968) berichten von einer Abnahme der Hirndurchblutung nach intravasaler Gabe von Propranolol. Die Autoren schlossen aus einem cerebralen Minderverbrauch von Sauerstoff und Glucose allerdings auf eine primäre metabolische Wirkung von Propranolol durch die dann sekundär eine Durchblutung hervorgerufen wurde (39).

Eine Herabsetzung des zerebralen Stoffwechsels durch einen verminderten glykolytischen Kohlehydratumsatz haben Esther und Ammom (1966) nach Gabe von Propranolol gemessen (76).

Entsprechend dieser Abnahme berichten James et al (1970) von einem zerebralen Mehrverbrauch von O_2 und Glukose nach Gabe von Isoproterenol (77). Die erhöhte Hirndurchblutung in diesen Versuchen könnte also durch einen vermehrten Gehirnstoffwechsel und nicht durch einen primär vaskulären Effekt hervorgerufen worden sein.

Wo in Versuchen nach intravasaler Gabe von Isoproterenol oder Propranolol nur die Durchblutungsveränderung gemessen wurde (28, 29, 40) kann zwischen primärer und sekundärer Wirkung auf den Gefäßtonus nur schwerlich unterschieden werden. Da bei der Mikroapplikationstechnik nur winzige Mengen der Testlösung in die unmittelbare Umgebung der einzelnen Piaarteriolen gespritzt werden, und diese Gefäße nicht von neuronalem Gewebe umgeben sind, kann angenommen werden, daß die beobachteten Änderungen des Gefäßdurchmessers einer direkten Wirkung auf die glatte Gefäßmuskulatur entsprechen (siehe auch Diskussion der Noradrenalin-Ergebnisse).

An der isolierten a. cereb. med. fanden Nielsen und Owman (1971), daß die konstringierende Wirkung von Noradrenalin (10^{-7} - 10^{-5} M/l) nur den dritten Teil der von Isoproterenol (10^{-5} - 10^{-3} M/l) ausmacht (27). Unter in vivo Bedingungen mit der Mikroapplikationsmethode, hatte dagegen Noradrenalin eine maximale Konstriktionswirkung von 40% ($2,5 \times 10^{-3}$ M/l), während die Maximaleffekte von Isoproterenol eine Zunahme

des Gefäßdurchmessers um 4 % ($2.5 \cdot 10^{-5}$ M/l) und eine Abnahme von 5 % ($2.5 \cdot 10^{-4}$ M/l) waren. Dabei ist es durchaus möglich, daß sich die effektive Rezeptorkonzentration von Noradrenalin und Isoproterenol nur wenig unterscheiden, da Isoproterenol bekanntermaßen von den adrenergen Terminalvesikeln nicht aufgenommen wird, im Gegensatz zu Noradrenalin. Falls sich die effektiven Rezeptorkonzentrationen tatsächlich ändern, entfaltet Noradrenalin in vivo eine weitaus stärkere Wirkung auf die Gefäßmuskulatur der Hirngefäße als Isoproterenol. Ergebnisse an isolierten Präparaten können hier scheinbar nicht auf Untersuchungen in vivo übertragen werden. Die schwache Wirkung von Isoproterenol auf die Piagefäße kann auch nicht durch einen Abbau der Substanz innerhalb der Verdünnung erklärt werden. Wie die Versuche an der Portalvene gezeigt haben (siehe Ergebnisse), schützt die Durchperlung mit O_2 -freiem Gas auch hohe Verdünnungen vor einem Wirkungsverlust während des Versuchsablaufs.

V. Zusammenfassung

Mit der Mikroapplikationsmethode wurde die Wirkung von Katecholaminen auf die Pia-Arteriolen der Katze überprüft. Noradrenalin bewirkte eine dosisabhängige Konstriktion mit einer maximalen Durchmesserabnahme von 40 % bei 2.5×10^{-3} M/l. Der Effekt war abhängig vom Bikarbonatgehalt der Lösungen und war am stärksten bei 11 mMq/l.

Die Wirkung von Isoproterenol war insgesamt gering. Die Dosiswirkungskurve verlief biphasisch mit einer leichten Dilatation (4 %) bei 5×10^{-5} M/l und einer leichten Konstriktion bei 3×10^{-3} M/l (5 %).

Die beiden Isomeren des β -Blockers Propranolol zeigten über einen weiten Konzentrationsbereich (3×10^{-9} bis 3×10^{-4} M/l) keine Wirkung. Die starke Dilatation bei 3×10^{-3} M/l wurde als unspezifischer Effekt gedeutet.

Die Ergebnisse sprechen dafür, daß die Gehirngefäße, zumindest an der Hirnoberfläche, für extravasal angebotene Katecholamine empfindlich sind und daß die Wirkung von Katecholaminen zum größten Teil über α -Rezeptoren vermittelt wird. Falls eine sympathikotone Regulation der Hirndurchblutung besteht, dürfte deren Erfolg abhängig sein vom pH der perivaskulären Flüssigkeit.

Der Abbau von Katecholaminen in den während der Versuche gebrauchten Verdünnungen wurde untersucht.

Die Durchperlung mit sauerstofffreiem Gas über die Dauer des Versuchs erwies sich als ausreichender Schutz gegen Wirkungsverluste in den benötigten Verdünnungen.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Lassen, N.A. :
Cerebral blood flow and oxygen consumption in man.
Physiol. Rev. 39, S. 183-238, 1959
- 2) Sokoloff, L. :
Action of drugs on the cerebral circulation.
Pharmacol. Rev. 2, S. 1-85, 1959
- 3) Nielsen, K. C. und Owman, C. :
Adrenergic innervation of pial arteries related to the
circle of Willis in the cat.
Brain Research 6, S. 773-776, 1967
- 4) Chorobski, J. und Penfield, W. :
Cerebral vasodilator nerves and their pathways from
the medulla oblongata with observation on pial and
intracerebral plexus.
Arch. Neurol. Psychiatry 28, S. 1257-1289, 1932
- 5) Falck, B., Nielsen, K. C. und Owman, C. :
Adrenergic innervation of pial circulation.
Scand. Lab. Clin. Invest., Suppl 102, VIB, 1968
- 6) Angelakos, E. T., Irvin, J. D., King, M. P. :
Adrenergic innervation of blood vessels in various
regions of the central nervous system.
(Abstr.) Fed. Proc. 29, 960, 1970
- 7) Nielsen, K. C., Owman, C., Sporrang, B. :
Ultrastructure of the autonomic innervation apparatus
in the main pial arteries of rats and cats.
Brain Research 27, S. 25-32, 1971
- 8) Iwayama, T., Furness, J. B. und Burnstock, G. :
Dual adrenergic and cholinergic innervation of the
cerebral arteries of the rat.
Circulation Research 26, S. 635-696, 1970

- 9) Dahl, E. und Nelson, E. :
Electron microscopic observations on human intra-
cranial arteries.
Arch. Neurol. 10, S. 56-62, 1964
- 10) Nelson, E. und Rennels, M. :
Innervation of intracranial arteries.
Brain 93, S. 425-490, 1970
- 11) Donders :
Physiologie des Menschen
bei S. Hirtzel, Leipzig 1859, S. 139 f
- 12) Forbes, H. S. und Cobb, S. S. :
Vasomotor control of cerebral vessels.
Brain 61, S. 221-233, 1938
- 13) Schmidt, C. F. und Pierson, J. C. :
Intrinsic regulation of blood vessels of the
medulla oblongata
Am J. Physiology 138, S. 421-431, 1943
- 14) Dumke, P. R. und Schmidt, C. F. :
Quantitative measurements of cerebral blood flow
in the macaque monkey
Am J. Physiology 138, S. 421-431, 1943
- 15) Schmidt, C. F. :
Intrinsic regulation circulation in the hypothalamus
of the cat.
Am J. Physiology 110, S. 137-152, 1934
- 16) Meyer, J. S., Yoshida, K. und Sakamoto, K. :
Autonomic control of cerebral blood flow measured by
electromagnetic flowmeters.
Neurology (Minneapolis) 17, S. 638-649, 1967
- 17) D'Alecy, L. G. und Feigl, E. O. :
Sympathetic control of cerebral blood flow in dogs.
Circulation Research 31, S. 267-283, 1972

- 18) Ludwigs, N. und Schneider, M. :
Über den Einfluß des Halssympathikus auf die Gehirndurchblutung.
Pflügers Archiv 259, S. 43-55, 1954
- 19) James I., Millar, R. A., Purves, M. J. :
Observations of the extrinsic neural control of cerebral blood flow in the baboon.
Circulation Research 25, S. 77-93, 1969
- 20) Kobayashi, S., Waltz, A. G., Rhoton, A.L. :
Effects of stimulation of cerebral sympathetic nerves on cortical blood flow and vascular reactivity.
Neurology (Minneapolis) 21, S. 297-302, 1971
- 21) Forbes, H. S. and Wolff, H. G. :
Cerebral circulation III.
Vasomotor control of cerebral vessels.
Arch. Neurol. Psychiatry 19, S. 1057-1086, 1928
- 22) Norcross, N. C. :
Intracerebral blood flow.
Arch. Neurol. Psychiatry 40, S. 291-299, 1938
- 23) Krog, J. :
The effect of cervical sympathetic stimulation on cerebral blood flow in dogs.
J. Oslo City Hospitals 14, S. 3-15, 1964
- 24) Krog, J. :
Autonomic nervous control of the cerebral blood flow in man.
J. Oslo City Hospitals 14, S. 25, 1964
- 25) Raper, A. J. und Kontos, H. A. :
Unresponsiveness of pial precapillary vessels to catecholamines and sympathetic nerve stimulation
Circ. Research 31, S. 257, 1972

- 26) Uchida, E., Bohr, D. F., Hoobler, S. W. :
Method for studying isolated resistance vessels from
rabbit mesentery and brain and their responses to drugs.
Circulation Research 21, S. 525-536, 1967
- 27) Nielsen, K. C. und Owman, C. :
Contractile response and amine receptor mechanisms in
isolated middle cerebral artery of the cat.
Brain Research 27, S. 33-42, 1971
- 28) Lowe, R. F. und Gilboe, D. G. :
Evidence for the presence of α and β adrenergic recep-
tors in the vasculature of the isolated perfuse canine
brain.
Stroke, 2, S. 193-200, 1971
- 29) Oberdörster, G., Lang, R., Zimmer, R. :
 α - und β -adrenergic activity of catecholamines in
the cerebral vascular bed;
in "Vascular smooth muscle",
Herausg. E. Betz, Springer-Verlag, Berlin 1972, S. 88-90
- 30) Greenfield, J. C. und Tindall, G. T. :
Effect of norepinephrine, epinephrine and angiotensin
on blood flow in the internal carotid artery of man.
J. Clin. Invest. 47, S. 1672-1684, 1968
- 31) Vendsalu, A. :
Studies on adrenalin and noradrenalin in human plasma.
Acta. Physiol. Scand. 49, Suppl 173, 1960
- 32) Forbes, H. S., Finley, K. H., Nason, G. H. :
Cerebral circulations.
Action of epinephrine on pial vessels, action of pituita-
ry and pitressine on pial vessels, vasomotor response in
the pia and in the skin.
Arch. Neurol. Psychiatry 30, S. 957-979, 1933
- 33) Fog, M. :
Cerebral circulation.
I. Reaction of pial arteries to epinephrine by direct
application and by intra venous injection.
Arch. Neurol. Psychiatry 41, S. 109-118, 1939

- 34) King, G. D., Sokoloff, L., Wechsler, R. L. :
Effect of (1)-epinephrine and (1)-norepinephrine upon
cerebral circulation and metabolism in man.
J. Clin. Invest. 31, S. 273-279, 1952
- 35) Sensenbach, W., Madison, L., Ochs, L. :
Comparison of the effects of (1)-norepinephrine,
synthetic (1)-epinephrine and U.S.P.-epinephrine upon
cerebral blood flow and metabolism in man.
J. Clin. Invest. 32, S. 226-232, 1953
- 36) Moyer, J. H., Morris, G., Snyder, H. :
Comparison of the cerebral hemodynamic response to
aramine and norepinephrine in the normotensive and
hypotensive subject.
- 37) Häggendahl, E. :
Effects of some vasoactive drugs on the vessels of
cerebral grey matter in the dog.
Acta. Physiol. Scand. 66, Suppl 258, S 55-79, 1965
- 38) Olesen, J. :
The effect of intracarotid epinephrine, norepinephrine
and angiotensine on the regional cerebral blood flow
in man.
Neurology 22, S. 978-987, 1972
- 39) Fuishima, M., Reinmuth, O. M., Kogure, K., Scheinberg,
P. :
The response to cerebral metabolism and flow to beta
adrenergic blockade
Circulation 38, Suppl. 6, S. 79, 1968
- 40) Green, Watts, Lewis:
Cerebral circulation.
Fed. Proc. 15, S. 452, 1956
- 41) Reivich, M. :
Arterial $p\text{CO}_2$ and cerebral hemodynamics
Am. J. Physiology 206, S. 25, 1964

- 42) Raper, A. J., Kontos, H. A., Patterson, J. L. :
Response of pial precapillary vessels to changes in
arterial carbon dioxide tension.
Circulation Research 28, S. 518, 1971
- 43) Donders
Nederland Lancet 5, S. 521, 1850, zit.nach Forbes (44)
- 44) Forbes, H. S. :
The cerebral circulation.
I. Observation and measurements of pial vessels.
Arch. Neurol. Psychiatry 19, S. 751-761, 1928
- 45) Gurdjian, E. S. und Thomas, L. M. :
Human pial circulation
Arch. Neurol. 5, S. 123, 1961
- 46) Kuschinsky, W., Wahl, M., Bosse, O., Thureau, K. :
Perivascular Potassium and pH as determinants of
local pial artery diameter in cats.
Circulation Research 31, 240-247, 1972
- 47) Fraser, R. A. R., Stein, B. M., Barret, R. E., Pool,
J. L. :
Noradrenergic mediation of experimental cerebrovascu-
lar spasm.
Stroke 1, S. 356-362, 1972
- 48) Fraser, R. A. R., Stein, B. M., Pool, J. L. :
Adrenergic blockade of hypocapnic cerebral arterial con-
striction.
Stroke 2, S. 219, 1971
- 49) Rosenblum, W. I. :
Cerebral arteriolar spasm inhibited by -adrenergic
blocking agents.
Arch. Neurol. 21, S. 296, 1969

- 50) Baez, S. :
Recording microvascular dimensions with an image-splitter television microscope.
J. Appl. Physiol. 21, S. 299-301, 1966
- 51) Brownlee, K. A. :
Statistical Theory and Methodology in Science and Engineering.
New York, John Wiley & Sons, 1967
- 52) Wilcoxon, F. und Wilcox, R. A. :
Some rapid approximate statistical procedures.
Pearl River, New York, Lederle Laboratories 1964, S.36-38
- 53) Pannier, J. L., Weyne, J., Leusen, J. :
CSF/blood potential and the regulation of the bicarbonate concentration of CSF during acidosis in the cat.
Life Sci. 10, S. 287-305, 1971
- 54) Whitsitt, L. S. und Lucchesi, B. R. :
Effects of propranolol and its stereoisomers upon coronary vascular resistance.
Circulation Research 21, S. 305-317, 1967
- 55) Shanks, R. G. :
The peripheral vascular effects of propranolol and related compounds.
Br. J. Pharmac. Chemoth. 29, S. 204-217, 1967
- 56) Kuschinsky, G. und Lüllmann, H. :
Lehrbuch der Pharmakologie
s. 22, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart 1972
- 57) Fink, B. R., und Schoolman, M. :
Arterial blood acid-base balance in unrestrained waking cats.
(Abstr.) Fed. Proc. 21, S. 440, 1962
- 58) Herbert, O. A. und Mitchell, R. A. :
Blood gas tension and acid-base balance in awake cats.
J. Appl. Physiol. 30, S. 434-436, 1971

- 59) Harper, A. M., und Bell, R. A.:
The effect of metabolic acidosis and alkalosis
on the blood flow through the cerebral cortex.
J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr. 26, S. 341, 1963
- 60) Wahl, M., Kuschinsky, W., Bosse, O., Thureau, K.:
Dependency of pial arterial and arteriolar diameter
on perivascular osmolarity in the cat.
Circulation Research 32, S. 162-169, 1973
- 61) Strubbelt, O., und Pražl, E.:
Pharmakologische Wirkung auf die Kontraktions-
frequenz der isolierten Rattenpfortader.
Arch. Intern. Pharmacodyn. Therap. 198, Vol. 2
S. 277-291, 1972
- 62) Johansson, B., Jonsson, O., Axelsson, J., Wahlström, B.:
Electrical and mechanical characteristics of vascular
smooth muscle response to norepinephrine and isopro-
terenol.
Circulation Research 21, S. 619-633, 1967
- 63) Voth, D., Schipp, R., Agsten, M., Schürmann, K.,
Kohlhardt, M., Dudek, J.:
Untersuchungen über den Einfluß des Kationenmilieus
und verschiedener Pharmaka auf die Kontraktilität
und Autorhythmik eines spontan aktiven glatten Gefäß-
muskels in vitro.
Archiv für Kreislaufforschung 60, S. 364-387, 1969
- 64) Wahl, M., Kuschinsky, W., Bosse, O., Olesen, J.,
Lassen, N. A., Ingvar, D. H., Thureau, K.:
Effect of perivascular microinjection of norepinephrine
and epinephrine on the diameter of pial arteries and
arterioles.
(Abstr.) in "Symposium on vascular smooth muscle"
E. Betz, S. 86-87, Springer-Verlag, Berlin 1972

- 65) Weil-Malherbe, H., Axelrod, J., Tomchick, R. :
Blood-brain barrier for adrenalin.
Science 129, S. 1226-1227, 1959
- 66) Weil-Malherbe, H., Whitby, L. G., Axelrod, J. :
Uptake of circulating ^3H - norepinephrine by the
pituitary gland and various areas of the brain.
J. Neurochem. 8, S. 55-64, 1961
- 67) Samorajski, T., und Marks, B. H. :
Localization of tritiated norepinephrine in mouse brain.
J. Histochem. Cytochem. 10, S. 392-399, 1966
- 68) Hamberger, A. und Hamberger, B. :
Uptake of catecholamines and penetration of trypan
blue after blood brain barrier lesions.
Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 70, S. 386-392, 1966
- 69) Reese, T. S., und Karnowsky, M. I. :
Fine structural localisation of a blood brain
barrier to exogenous peroxidase.
J. Cell. Biol. 34, S. 207-217, 1967
- 70) Brightman, M. W., Reese, T. S., Feder, N. :
Assessment with the electromicroscope of the
permeability to peroxidase of cerebral endothelium
in mice and sharks.
"Capillary Permeability", ed. by C. Crone und N. A. Lassen
S. 468-469, Munkgaard, Kopenhagen 1970
- 71) Baez, S. :
Simultaneous measurements of radii and wall thickness
of microvessels in the anaesthetized cat.
Circulation Research 25, S. 315-329, 1969
- 72) Trendelenburg, U., Drakoczy, P. R., Pluchino, S. :
Density of adrenergic innervation of the cat's nictitating
membrane as a factor influencing the sensitivity of the
isolated preparation to (1)-norepinephrine.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 166, S. 14-25, 1969

- 73) Trendelenburg, U. :
Importance of the uptake mechanism of adrenergic nerves for nonvascular smooth muscle.
Proc. Symp. Physiol. Pharmacol. Vasc. Neuro-effector Systems, Interlaken 1969, S. 119-125
bei Karger, Basel 1971
- 74) Peiper, U., und Wende, W. :
Wirkung der extrazellulären Wasserstoffionenkonzentration auf die adrenerge Aktivierung des Gefäßmuskels.
Pflügers Archiv 314, S. 14-26, 1970
- 75) Wu, Ch., Norahashi, T.:
Mechanism of action of propranolol on squid axon membranes.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 184, S. 155-162, 1973
- 76) Wahl, M., Kuschinsky, W., Bosse, O., Olesen, J., Lassen, N. A., Ingvar, D. H., Thurau, K. :
Adrenergic control of cerebral vascular resistance; in "Cerebral Blood Flow and Intracranial Pressure"
Herausg. C. Fieschi, bei Karger, Basel 1972, S. 185-189
- 77) Estler, C. J., und Ammon, H. P. T. :
The influence of the β -sympatholytic agent propranolol on glycogenolysis and glycolysis in muscle brain and liver of white mice.
Biochem. Pharmacol. 15, S. 2031-2035, 1966
- 78) James, I. M., Xanoulatos, C., Nashat, S. :
The effect of CO_2 -tension and blood pressure on cerebral metabolism and blood flow after isoprenaline infusion; in "Brain and Blood Flow", Herausg. R. W. Ross Russel London 1970, S. 229-232

LEBENS LAUF

Am 2. April 1949 wurde ich als fünftes Kind des Dr. Heinrich Bosse und seiner Ehefrau Gertraud Bosse, geb. Bielenstein, in Immenstadt geboren.

Die Volksschule besuchte ich ab 1955 in Heilbronn, ab 1957 in Neckarsulm. Von 1959 bis 1967 war ich Schüler im Theodor-Heuss-Gymnasium Heilbronn, wo ich im Juni 1967 auch die Reifeprüfung ablegte.

Das Medizinstudium begann ich im Wintersemester 1967/68 an der Freiburger Universität, wo ich auch im Herbst 1969 das Vorphysikum und im Frühjahr 1970 das Physikum bestand.

Das klinische Studium durchlief ich an der Medizinischen Fakultät der Technischen Universität München. Hier legte ich am 26. Juli 1974 das Staatsexamen ab.

